

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Haemorheologiai paraméterek fizikai és metabolikus  
hatásokra történő változásainak összehasonlító vizsgálatai**

**Tánczos Bence**

**Témavezető: Dr. Deák Ádám**



**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2022**

## Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK.....	4
BEVEZETÉS .....	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. Röviden a haemorheologiai paraméterekről.....	6
2.1.1. Vér- és plazma viszkozitás .....	7
2.1.2. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás.....	9
2.1.3. Vörösvérsejt aggregatio.....	10
2.2. Haemorheológiai paramétereket befolyásoló főbb hatások.....	10
2.2.1. Mechanikai stressz .....	11
2.2.2. Hőmérséklet .....	12
2.2.3. Metabolikus hatások.....	14
2.2.4. Hypercholesterinaemia és atherosclerosis .....	14
3. CÉLKITŰZÉS .....	18
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	19
4.1. Kutatási engedélyek .....	19
4.2. Kísérleti protokollok.....	19
4.2.1. Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai.....	19
4.2.2. A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására .....	21
4.2.3. Koleszterindús diéta haemorheologiai hatásai.....	22
4.3. Laboratóriumi mérések, mintaelőkészítés .....	23
4.3.1. Haematologiai paraméterek .....	23
4.3.2. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás.....	24
4.3.3. Teljes vér- és plazma viszkozitás .....	26
4.3.4. Vörösvérsejt aggregációs mérések.....	27
4.3.5. Statisztikai elemzések.....	28
5. EREDMÉNYEK.....	30
5.1. Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai.....	30
5.2. A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására .....	36
5.2.1. Haematologiai paraméterek .....	36
5.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás vizsgálatok .....	37
5.2.3. Vörösvérsejt membránstabilitási vizsgálatok .....	40
5.3. Koleszterindús diéta haemorheologiai hatásai.....	42

5.3.1.	Testtömeg változások .....	42
5.3.2.	Haematologiai eredmények .....	42
5.3.3.	Haemorheologiai eredmények .....	43
6.	MEGBESZÉLÉS .....	49
6.1.	Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai.....	49
6.2.	A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására .....	51
6.3.	Koleszterindús diéta haemorheologiai hatásai.....	54
	FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEGZÉSE .....	61
7.	ÖSSZEFOGLALÁS .....	62
8.	SUMMARY .....	63
9.	IRODALOMJEGYZÉK.....	64
9.1.	Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	64
9.2.	Az értekezés alapjául szolgáló közlemények hitelesített listája.....	73
10.	TÁRGYSZAVAK .....	78
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	79
	FÜGGELÉK.....	80

## Rövidítésjegyzék

EI	elongatiós index
EI <sub>max</sub>	maximális elongatiós index
Fvs	fehérvérsejt
HC	hypercholesterinaemiás
Hct	haematocrit
Hgb	haemoglobin
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein (low density lipoprotein)
MCH	átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (mean corpuscular hemoglobin concentration)
MCV	átlagos vörösvérsejt térfogat (mean corpuscular volume)
SS	nyírófeszültség (shear stress)
SS <sub>½</sub>	maximális elongatiós index feléhez tartozó nyírófeszültség
PBS	foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldat
Pv	plazma viszkozitás
PVP	polyvinyl-pyrrolidon
Thr	thrombocyta szám
Tvv	teljes vér viszkozitás
Vvs	vörösvérsejt

*„Szerelem és vér.  
Mindkettő hatalmas erővel bír.  
A mágusok és a tudósok hosszú ideje törik rajta a fejüket,  
de semmire se jutottak, azt az egyet kivéve...  
Igaz szerelemnek lennie kell.”*

(Andrzej Sapkowski: Vaják - Az utolsó kívánság)

## BEVEZETÉS

A vér különleges szerepet tölt be az evolúciós értelemben vett magasabb rendű élőlények szervezetében. Lehetővé teszi a tápanyagok, hormonok, jelátviteli molekulák eljutását a célszervekhez, fontos szerepe van az immunrendszer, és az immunválasz kialakításában részt vevő elemek funkciójának betöltésében. A fentebb említett okok miatt különleges fizikai és kémiai tulajdonságokkal rendelkezik (nem-Newtoni folyadék, pH puffer). Érthető módon az emberiséget már a tudomány hajnala óta érdekelte ennek a különös és különleges „szövetnek” a működése és a szervezetben betöltött szerepe.

A vér számos alakos eleme közül fontos kiemelni a vörösvérsejtek jelentőségét és különleges tulajdonságait. Fő feladatuk az oxigén és szén-dioxid szállítása a szövetek és a tüdő között. Ahhoz, hogy a legkisebb szövetek megfelelő oxigén ellátását biztosítsák (és ezzel az ideális szöveti perfúziót) az erythrocyták, és megfelelően tudjanak közlekedni a szervezet kapillárisaiban, képesnek kell lenniük a nagy mértékű alakváltozásra, deformálhatóságra (Mohandas és Chasis 1993, McMahon 2019). Ezt a tulajdonságukat a (1) cytosceletalis fehérjéknek, (2) az intracelluláris ion és vízháztartás kontrollálásának, (3) és a sejtmembrán felület-térfogat arányának köszönhetik. Ezeket a tényezőket negatívan befolyásolhatják az

öröklött haemoliticus anémiák (sarló sejtvesztés, thalassaemia) (Huisjes és mtsai 2018) valamint fizikai és hatások, az oxidációs és gyulladási folyamatok.

Ismert továbbá, hogy a vér áramlási tulajdonságai nagy különbségeket mutatnak a különböző fajok között (Snyder és Shear 1999, Németh és mtsai 2009, 2010, 2016).

A fentebb említett okok miatt fontos mind a módszertani, mind fajok és nemek közötti összehasonlító haemorheológiai vizsgálatok végzése.

## **2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

### **2.1. Röviden a haemorheológiai paramétereiről**

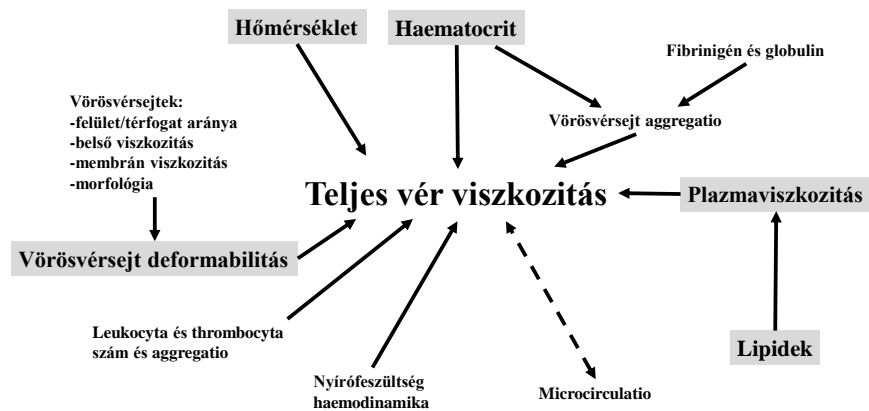
A rheológia a fizika azon ága, amely az anyagok (gázok, folyadékok, fél-szilárd vagy különleges körülmények között szilárd anyagok) fizikai behatásra történő deformációjával foglalkozik olyan esetben, amikor az adott anyag plasztikus alakváltozással reagál erre. A rheológia fogalmát Eugene Cook Bingham (1920) fogalmazta meg (Steffe 1996). Ez a kritériumrendszer olyan anyagokra vonatkozik, amelyek komplex mikrostruktúrával rendelkeznek.

A rheológia vagyis áramlástan a különböző anyagok erőhatásra bekövetkező deformálódásával és folyási/áramlási tulajdonságaival foglalkozó tudományágból (Eugene C. Bingham, 1929) alakult ki a haemorheológiai vagyis a vér áramlástan, ami a vér sejt és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése (Alfred L. Copley, 1951).

### 2.1.1. Vér- és plazma viszkozitás

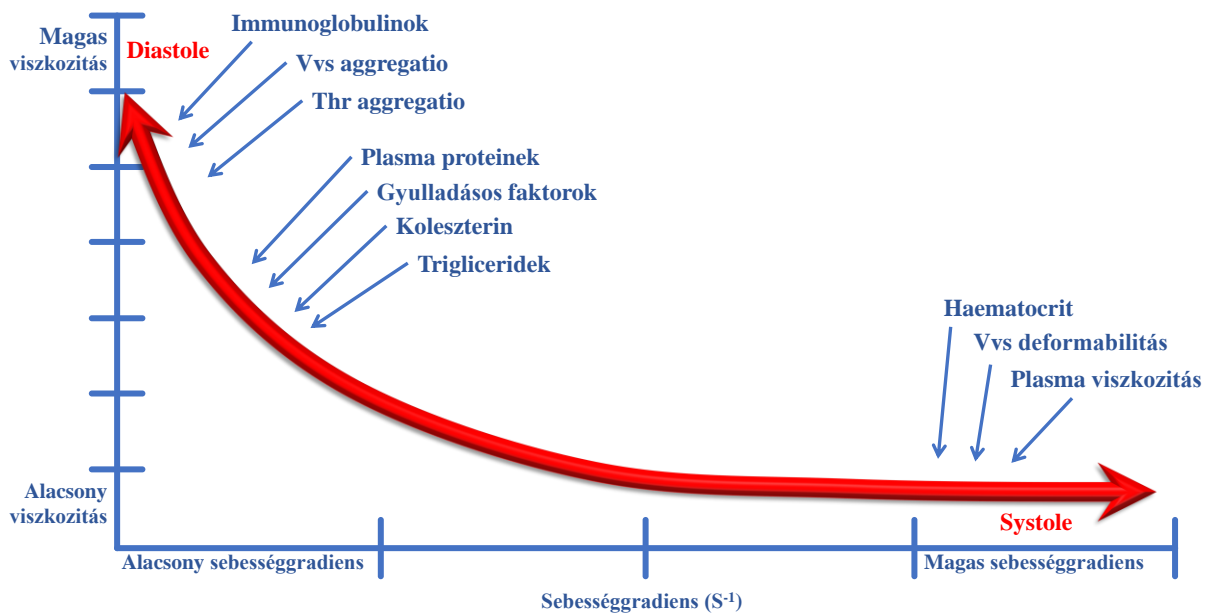
A vér egy összetett rendszer, amely alakos elemekből (vörösvérsejtek, fehérvérsejtek és vérlemezkék) és az ezeket szuszpendáló közegként körülvevő fehérjéket, szerves molekulákat és sókat tartalmazó folyékony plazmából áll. Ezen tulajdonságai miatt nem-Newtoni folyadékként viselkedik rheologiai értelemben, vagyis viszkozitása nem állandó, nem csak a hőmérséklettől, hanem a nyírófeszültségtől és a sebességgradienstől is függ.

A vér viszkozitását befolyásoló tényezők közül nem csak a ráható erők, hanem a benne levő alakos elemek száma és fiziológiás vagy patofiziológiás állapota is befolyásolhatja (Bodnár és mtsai 2011, Meiselman 1981, Baskurt és Mat 2000, Baskurt és mtsai 2004, Connes és mtsai 2009). A vörösvérsejtek száma, mérete, alakja, felület/térfogat aránya, belső viszkozitása, membrán viszkozitása és deformálhatósága mellett fontos faktor lehet a fehérvérsejtek és thrombocyták száma és aggregációja is. Jelentős szerepet játszanak a vérplazmában levő fehérjék (fibrinogén, globulin) és zsírok mennyisége, valamint a koleszterinszint (1. és 2. ábra) (Németh 2020, Cowan és mtsai 2012).



**1. ábra**  
Teljes vér viszkozitást befolyásoló haemorheologiai paraméterek  
(A Sebészeti Műtéttani Tanszék ábraanyagából)

A teljes vér viszkozitást számos faktor befolyásolhatja az alacsony vagy magas sebesség-gradiens függvényében. A keringési rendszer azon részein, ahol sebesség-gradiens magas a teljes vér viszkozitást elsősorban a haematocrit, a vörösvérsejtek deformabilitása és a plazma viszkozitás határozza meg. Ahol a sebesség-gradiens alacsony és a vér áramlása lelassul ott a molekulák és a sejtek kölcsönhatásba lépnek, így a vörösvérsejt és a vérlemezke aggregatio jöhet létre. Ezek a kölcsönhatások növelhetik vagy csökkenthetik a sebesség-gradienst és ennek megfelelően befolyásolhatják a teljes vér viszkozitást. Mivel a vér nem-newtoni folyadék, fontos, hogy a kísérletek során olyan sebesség-gradiens tartományban mérjünk, amely reprezentálja az in vivo előforduló értékeket (2. ábra. Cowan és mtsai 2012, Ho 2004, Németh és mtsai 2009).



**2. ábra**

A teljes vér viszkozitáshoz hozzájáruló faktorok (Cowan és mtsai 2012 alapján)

### ***2.1.2. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás***

A vörösvérsejtek rendkívül nagy alakváltoztató képességgel vagy deformabilitással rendelkeznek. Erre azért van szükség, mert az átlagos méretük embereknél  $6,2 - 8,2 \mu\text{m}$ , de az érrendszerben levő legkisebb kapillárisok között azonban  $5 \mu\text{m}$  átmérőnél kisebbek is vannak. Mivel az oxigén cserében betöltött szerepük az egyik legjelentősebb tulajdonságuk, be kell tudniuk férkőzni ezekbe a kis kapillárisokba és betölteni feladatukat (Németh 2020, Tóth és mtsai 2014). További tényezők, amelyek befolyásolják a deformabilitást, a vörösvérsejtek alakja, felület-térfogat aránya és a sejtek kora (minél idősebb egy sejt, annál gyengébb deformabilitással bír). A deformabilitás olyan szempontból is fontos tulajdonság, hogy az érpályában való folyamatos áramlás miatt, a vörösvérsejtek eltérő erősségű nyíróerőnek vannak kitéve. Ezek a nyíróerők  $0,1 - 15 \text{ Pa}$  erősségű nyírófeszültség értékek között mozognak az erekben, így ennek is ellen kell állniuk. Ezekkel a nyíróerők okozta változásokkal a vörösvérsejtek membránstabilitás értékeiben történő változások, mint jelzők szolgálnak (Németh 2020, Simmonds és mtsai 2014b).

A vörösvérsejtek deformabilitása, vagyis formálhatósága, alaktartási képessége függ a sejt térfogatától, a térfogat-felület aránytól, az intracellularis viszkozitástól, a sejtmembrán viscoelasticus jellemzőitől és a mechanikai stabilitástól (Mohandas, Chasis 1993, de Oliveira, Saldanha 2010, Picas, Rico és mtsai 2013). A külső mechanikai erőhatások (legyenek azok fiziológias vagy annál nagyobb) jelentős mértékben befolyásolhatják a vörösvérsejtek microrheologiai tulajdonságait, így a deformabilitást, membránstabilitást és aggregációt is (Kim, Lee és mtsai 2016). A vörösvérsejt membrán (mechanikai) stabilitási teszt egy hasznos módszer arra, hogy egy előre meghatározott nyírófeszültség (mechanikai stressz) hatására bekövetkező

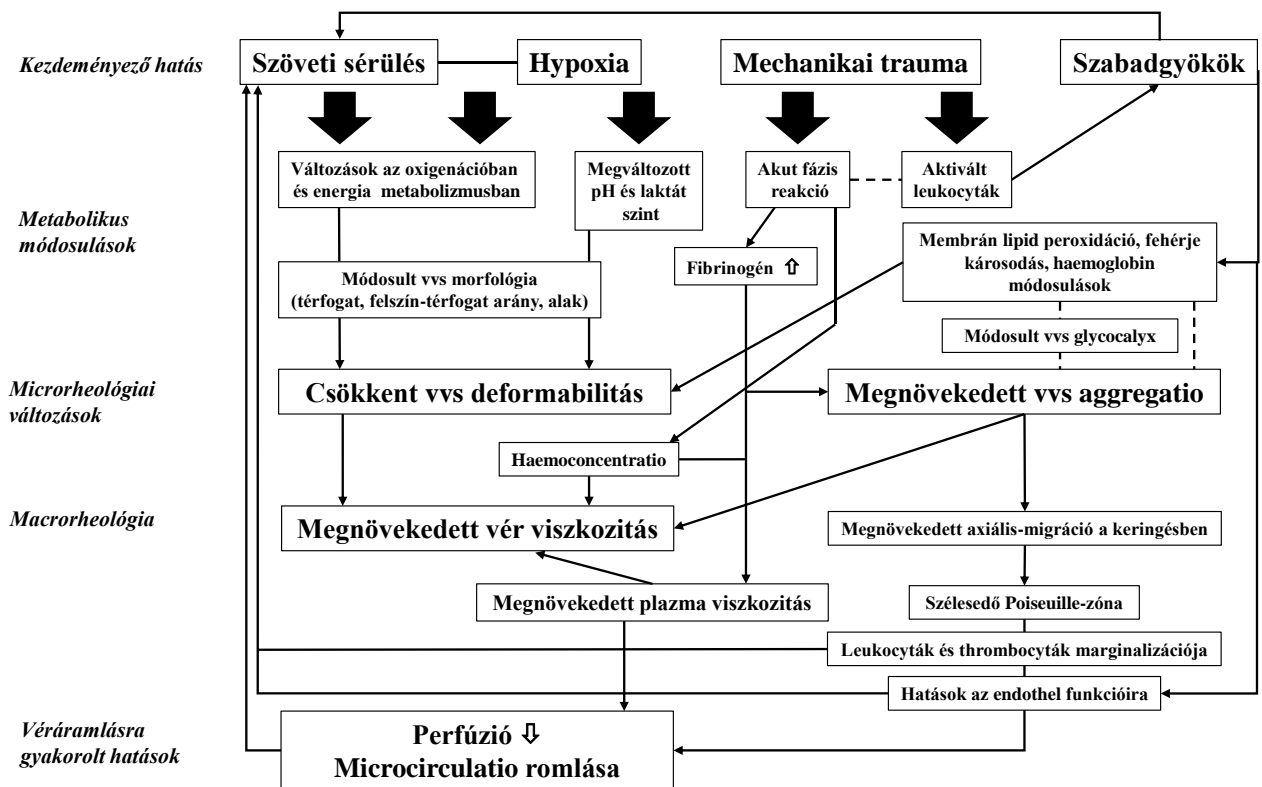
deformabilitás változásokat, és a sejtek stressztűrő képességét megvizsgáljuk (Baskurt 2012, Baskurt, Meiselman 2013c).

### ***2.1.3. Vörösvérsejt aggregatio***

A vörösvérsejtek aggregációja, vagyis reverzibilis, egymáshoz való kapcsolódásának képessége egyik jellegzetes tulajdonságuk, aminek fiziológiai szerepe mellett diagnosztikai jelentőse is van. Alacsony nyírófeszültség mellett vagy stasisban a vörösvérsejtek reverzibilis módon, egymáshoz csatlakoznak, úgynevezett rouleaux (pénztekercs) formákat alakítanak ki. A vörösvérsejtek aggregációs hajlamát befolyásolja azok felszíni töltése, alakja, a plazmában levő fehérjék mennyisége is milyensége (pl. több fibrinogén, magasabb aggregációs hajlam). Ezen okok miatt a vörösvérsejtek aggregációjának vizsgálata jó diagnosztikai mutató. Bizonyos betegségeknél összefüggés található az aggregatio növekedése, a betegség megléte és előrehaladottsága között, így magasabb aggregációs értékek mutathatók ki gyulladásos állapotokban, fertőzések esetén, illetve diabetesben is (Baskurt és Mat 2000, Baskurt és mtsai 2004, Cihia és mtsai 2003).

## **2.2. Haemorheológiai paramétereket befolyásoló főbb hatások**

Számos hatás befolyásolja a véráramlási paramétereket: megváltozott vörösvérsejt deformabilitás, aggregatio, vérvizkozitás. A 3. ábra összegzi a véráramlást befolyásoló főbb tényezőket és faktorokat.



3. ábra

A véráramlást befolyásoló faktorok és tényezők sematikus ábrája.

(Németh és mtsai 2018 alapján)

### 2.2.1. Mechanikai stressz

A vörösvérsejtek az érpályában eltöltött életük folyamán állandóan változó irányú és erősségű nyírófeszültségeknek vannak kitéve. Az 5-20 Pa nyírófeszültségre a vörösvérsejtek nitrogén-monoxid (NO) felszabadulásával reagálnak, ami megnövekedett deformabilitási képességben mutatkozik meg (Bor-Kucukatay és mtsai 2003; Ulker és mtsai 2009; Meram és mtsai 2013). Az ennél magasabb nyírófeszültségek maradandó károsodást okoznak a sejteknek (Kameneva és mtsai 2007; Leverett és mtsai 1972). Ha stressz eléggé magas, a sejtek

elongálódnak, fragmentálódhatnak, hemolizálhatnak, ami szabad haemoglobin és mikropartikulák felszaporodását eredményezni az érpályában. Az ún. „sublethatis” trauma esetén a sejtek még nem hemolizálnak, de mikrorheológiai paramétereik úgy változnak, hogy csökkent deformabilitással, és megnövelt aggregációs hajlammal rendelkeznek (Kameneva és mtsai 2007; Horobin és mtsai 2017; Simmonds és mtsai 2014; Simmonds és mtsai 2016).

### ***2.2.2. Hőmérséklet***

A testhőmérsékletet számos belső és külső környezeti tényező befolyásolja (Gomez 2014, Cheshire 2016, Ogoina 2011). A normálisnak vett maghőmérséklet (a szívben levő vér hőmérséklete) viszonylag szűk határok között változik (Cheshire 2016, Hasday és Singh 2000). A test perifériáján, például a végtagok vagy fül bőrének kapillárisaiban, a vörsejtek szélesebb hőmérsékleti tartományok között működnek. A test ezen részein a vörsejtek jobban ki vannak téve a folyamatosan változó, hol alacsonyabb, hol magasabb környezeti hőmérsékletnek (Cheshire 2016, Lim, Byrne és mtsai 2008).

A testhőmérséklet különböző mechanizmusok alapján emelkedhet a normális fölé. Előfordulhat, hogy a hypothalamus nem képes a rendkívül meleg környezet, az erőltetett izommunka vagy a rossz hőleadási körülmények miatt az izotermia biztosítására. Ilyenkor az úgynevezett nem regulált hyperthermia alakul ki, amelynek következtében hőséguta léphet fel. Ezzel ellentétben a láz, az állati és emberi szervezet természetes hőszabályozási/védekezési folyamata, melynek során a testhőmérséklet folyamatosan a test hőszabályozó központjának az ellenőrzése áll. Ezt nevezzük regulált hyperthermiának. A láz magasabb, de nem extrém magas testhőt eredményez (Gomez 2014, Blatteis 2007, Romanovsky 2007), amelynek alakulására, a nem regulált hyperthermiával ellentétben, a külső hőmérséklet nem gyakorol jelentős befolyást.

A hyperthermia és a láz értékei fajok, fajták közötti, nem és korbeli eltéréseket is mutathatnak. Az általunk vizsgált állatfajok, így a patkány, a kutya és a sertés esetében az alap testhőmérséklet magasabb, mint az embereknél, emiatt a láz is magasabb hőmérséklet tartományokra tolódik az emberhez képest (I. táblázat) (Hasday és Singh 2000). A fajok többségénél 1,5°C-tól akár 5°C-ig terjedő maghőmérséklet emelkedés figyelhető meg láz esetén (Hasday és Singh 2000).

**I. táblázat** Testhőmérséklet normál és lázas állapot esetén emberben, patkányban, sertésben és kutyában (Hasday és Singh 2000 alapján)

<b>Faj</b>	<b>Normál testhőmérséklet (°C)</b>	<b>Testhőmérséklet láz esetén (°C)</b>
Ember	36,0 – 37,8	37,9 – 41
Patkány	37,9 – 38,2	38,6 – 39,4
Kutya	38,1 – 39,2	39,3 – 42,2
Sertés	39,3 – 39,9	40,5 – 41,1

Annak ellenére, hogy jelentős számú szakirodalmi és tapasztalati adat áll rendelkezésre a láz és hyperthermia fiziológias és patofiziológias hatásairól, kevés irodalmi adat található a megnövekedett hőmérséklet haemorheológiai hatásaira *in vivo*. Több tanulmány szól arról, hogy a lázas állapottal járó betegségek (pl. COVID-19) hatással lehetnek az endotheliumra (Jung és mtsai 2020) és a vörösvérsejtek rheológiai tulajdonságaira (Renoux és mtsai 2021). A vörösvérsejtekben, hőkezelés hatására történő változások vizsgálatával kapcsolatban több tanulmány is született (Ham és Shen 1948, Rakow és Hochmuth 1975, Baskurt és mtsai 2009a), azonban a különböző fajok közötti összehasonlító elemzések száma kevés ebben a témában (Baskurt és mtsai 2013a, Németh és mtsai 2016).

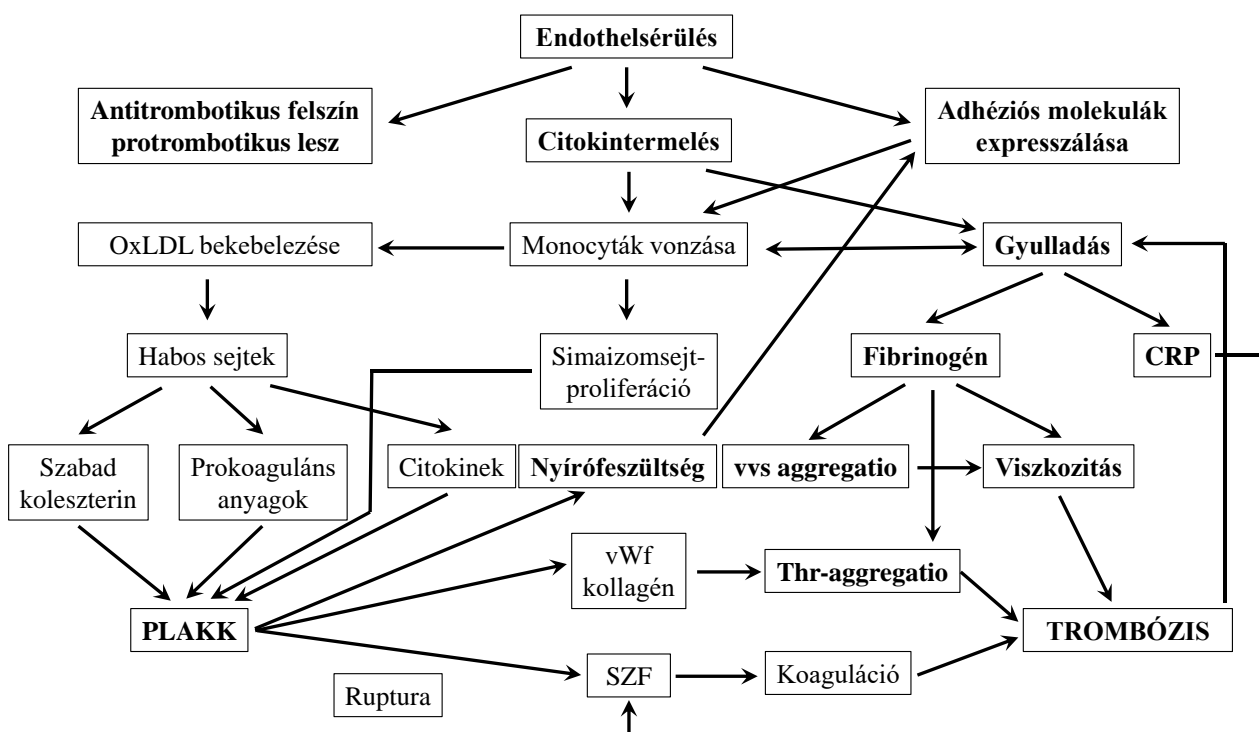
### ***2.2.3. Metabolikus hatások***

A vörösvérsejteket körülvevő környezetben bekövetkező osmoláris és metabolikus (pl: pH csökkenés, laktát szintemelkedés) változások megváltoztatják ezek mechanikai és morfológiai tulajdonságait (Németh és mtsai 2012). A pH csökkenés megváltoztatja a vörösvérsejtek klasszikus bikonkáv discocyta alakját, stomatocyta (a sejtek közepén egy szájhoz hasonló és egyenes vonalú rés található) vagy sphero-stomatocyta (gömbölyded stomatocyta) alakká. ATP szint csökkenés és kalcium felhalmozódás esetén az echinocyta (a sejtmembránon, közel azonos méretű tüskeszerű kiemelkedések jelennek meg) és sphero-echinocyta (gömbölyded echinocyta) alakok a dominánsak (Reinhart és Chien 1980). Továbbá a deoxigenált vörösvérsejtek csökkent deformabilitással, és megnövekedett aggregációs hajlammal rendelkeznek (Baskurt és mtsai 2009c; Meiselman 1981; Cicha és mtsai 2003; Connes és mtsai 2009).

### ***2.2.4. Hypercholesterinaemia és atherosclerosis***

Az atherosclerosis az artériák falát érintő, egész szervezetre kiható betegség. Az érlemezésedés a világ lakosságának egyre növekvő hányadát érinti, melynek okai az egészségtelen táplálkozás (zsíros ételek fogyasztása) és az egészségtelen életmód (mozgásszegény életmód, dohányzás) és az ezek következtében kialakuló metabolikus szindróma (magas vérnyomás, emelkedett koleszterinszint, cukorbetegség). A betegség fő jellemzője az úgy nevezett atheromatosis plakk képződése a közepes és nagy artériákon. A plakk képződés oka részben a hyperlipidaemia (magas lipid vagy lipoprotein koncentráció a vérben), részben a lipid oxidáció (low-density lipoprotein [LDL] oxidáció) lehet (Rafieian-Kopaei és mtsai 2014). Az atherosclerosis kialakulása során az artériák legbelső felszínét borító rétegben (tunica intima) lipoproteinek és plazmaproteinek (elsősorban fibrinogén) rakódnak le.

A szervezet válaszaként a monocyták a vérből átjutnak az endothelen, majd az intimában bekebelezik az oxidálódott LDL-t és habos sejtekké alakulnak át. A habos sejtek, az érfalon lipidcsíkokat hoznak létre. A későbbiekben kötőszövet és simaizom sejtek halmozódnak fel a subintimális térben, ehhez kapcsolódnak cytokinek, növekedési faktorok, koleszterin és prokoaguláns anyagok, létrehozva az érfalból kiemelkedő plakkot. Erre a plakra kalcium lerakódás indulhat meg, melynek eredményeképp az erek megkeményednek és a lumenjük beszűkül. A 4. ábra a plakk kialakulását és a folyamatban résztvevő faktorokat ismerteti.



**4. ábra**

Az atheroscleroticus plakkok kialakulásáért felelős tényezők, és azok egymásra hatása  
(CRP: C-reaktív protein; SZF: szöveti faktor; vWf: von Willebrand faktor)  
(Késmárky és mtsai 2004 alapján)

Az elmúlt évtizedekben, az atherosclerossal kapcsolatban számos nemzetközi, hosszú távú, utánkövetéses és nagy esetszámú vizsgálatot végeztek. Az Edinburgh Artery Study a teljesvér

viszkózitás szintje és a carotis intima-media vastagsága között, a Puerto Rico Study pedig a magas haematocrit és myocardialis ischaemia közötti kapcsolatot mutatta ki. A Caerphilly/Speedwell Study esetén a magasabb fibrinogén és az emelkedett koleszterinszint egymástól függetlenül is jelentős rizikófaktornak bizonyult, míg a Northwick Park Heart Study szerint az emelkedett fibrinogén szint, még az emelkedett koleszterinszintél is nagyobb rizikófaktor lehet. Ezen tanulmányok rávilágítottak a haemorheologiai és a haematologiai faktorok jelentős szerepére az atherosclerosis kialakulásában (Baker és mtsai 2002, Monsanto és mtsai 2014, Pizzi és mtsai 2009, Tzoulaki és mtsai 2007, Baskurt és mtsai 2003, Wang és Tall 2016).

Számos olyan mechanizmus létezik, amelyek révén a haemorheologiai faktorok elősegíthetik az atherogenesisist. Ide tartozik a thrombosisra hajlamosító hypercoagulabilitás, a rheológiai elváltozások miatti csökkent véráramlás, valamint a fibrinogén és metabolitjainak megnövekedett koncentrációja (Baskurt és Meiselman 2003, Koscielny és mtsai 2004). Ernst és Koenig (1993) leírták, hogy az emelkedett plazma viszkózitás (4. ábra) és a haematocrit értékek a kórképek megjelenése előtt már évekkel korábban jelentkezhetnek.

A legújabb kutatások arra utalnak, hogy a lamináris véráramlás (azaz áramvonalas véráramlás, ahol a viszkózus erők túlsúlyban vannak a tehetetlenségi erőkkel szemben) és az artéria egyenes szakaszaiban a tartós nagy nyírófeszültség lecsökkenti az atherogenezishez kapcsolódó gének expresszióját, például a monocyta kemotaktikus fehérje-1 (MCP-1) és felerősíti az antioxidáns és növekedést gátló géneket az endothel sejtjeiben. Ezzel szemben az egyenetlen, szabálytalan áramlás és recirkuláció és az ezzel járó alacsony, reciprok nyírófeszültség az artériás rendszer elágazási pontjain az MCP-1 tartós indukcióját okozza az endothelben, és fokozza a monocyták infiltrációja az artériák falába (Chiu és mtsai, 2009).

A haematologiai faktorokat tekintve egyre több bizonyíték van arra, hogy a magas koleszterinszint nem csak közvetlenül az érfalba történő beépüléssel vesz részt az atherogenesisben, hanem közvetetten is: a vérlemezkék és a fehérvérsejtek képzésének serkentésével. A hypercholesterinaemia a vérlemezkék aktivációjával elősegíti a fehérvérsejtekkel történő aggregációját, melyekkel együttesen vesznek részt az atherotromboticus elváltozások kialakításában.

#### 2.2.4.1. Koleszterindús diéta hatása

A nyúl, a humán anyagcsere betegségek kutatásában már régóta széleskörűen alkalmazott és elfogadott kísérleti modellállat (Kolodgie és mtsai 1996). A nyulak lipid anyagcsereje különösen alkalmassá teszi ezeket az állatokat a lipoprotein-anyagcsere, az érlemezés és a metabolikus szindrómák patofiziológiájának vizsgálatára (Yan és mtsai 2010, Dornas és mtsai 2010, Fan és mtsai 2014, Lozano és mtsai 2019). Ezen túlmenően a faj szívizom anatómiája és élettani paraméterei (aktin-miozin szerkezete, ioncsatorna jellemzői) is összevethetőek az emberével, így a nyúl ideális modell olyan szívbetegségek vizsgálatára, mint a szívritmuszavar, az ischaemiás szívkárosodás, a szívinfarktus, vagy a szívelégtelenség (Milani-Nejad és mtsai 2014, Conceição és mtsai 2016).

A szakirodalomban jelentős számú cikket találhatunk a nyulakon végzett atherosclerosisral kapcsolatos kutatásokról (Dornas és mtsai 2010, Fan és mtsai 2014), azonban egészséges (Windberger és mtsai 2003, Németh és mtsai 2009), és atheroscleroticus nyulak (Abdelhalim és mtsai 2016) haemorheologiai és haematologiai adatait közlő publikációk száma kevés.

### 3. CÉLKITŰZÉS

A haemorheologiai faktorokra ható tényezők és az ezekhez kapcsolódó metodika tekintetében több kísérleteket végeztünk:

1. Metodikai jellegű kísérletünkben a vörösvérsejt membrán (mechanikai) stabilitási vizsgálatok során kapott eredmények és azok kiértékelési módszereinek összehasonlítása natív és kémiaiilag csökkentett deformabilitású patkány vérminták esetén. Az irodalomban használatos paraméterek kiértékelése és összevetése újabb, informatívabb értékelési módszerrel.
2. Második kísérletünk célja volt az *in vitro* hőkezelés és lassú melegítés hatására bekövetkező microrheologiai paraméterekben történő változások összehasonlító elemzése humán, patkány, kutya és sertés vérmintákban, valamint a kezelések hatásának elemzése a vérminták rheologiai paramétereire, a fajok közötti különbségek feltárása céljából.
3. Harmadik kísérletünkben a tizenhat hét atherogen diéta okozta megnövekedett koleszterinszint hatásának tanulmányozása a haematologiai, macrorheologiai (teljes vér és plazma viszkozitás) és microrheologiai (vörösvérsejt aggregatio, deformabilitás és membránstabilitás) paraméterekre nyúl modellben.

## 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4.1. Kutatási engedélyek

Az állatokon végzett kísérleteket a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság jóváhagyásával és a Hajdú-Bihar Megyei Kormányhivatal engedélyével, a magyar (1998-as XXVIII. Törvény az állatok védelméről és kíméletéről) és Európai Unió (2010/63/EU Irányelv) jogszabályok és etikai elvek szerint végeztük. A humán vérminták esetében a Debreceni Egyetem Regionális Kutatás Etikai Bizottság engedélyével rendelkezünk.

Az egyes kísérletek engedélyszámai:

- 1) Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai: 19/2011/DEMÁB
- 2) A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek stabilitására, összehasonlító elemzés: 25/2016/DEMÁB, 7/2014/DEMÁB, 13/2014/DEMÁB
- 3) Koleszterindús diéta haemorheológiai hatásai: 25/2013 DEMÁB

A humán vérmintákra vonatkozó Klinikai Etikai Engedély szám a hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek stabilitására, összehasonlító elemzésénél: DE-RKEB 3189-2010.

### 4.2. Kísérleti protokollok

#### 4.2.1. *Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai*

Ebben a kutatásban öt, egészséges hím, CD outbred patkányt vontunk be (testtömeg:  $478 \pm 12,6$ g). A vérvételek (0,5-0,7 mL) a laterális farokvénából történtek, altatásban (60 mg/ttkg thiopental i.p.), 1,8 mg/mL K3-EDTA-t tartalmazó BD Vacutainer© csövekbe (Becton,

Dickinson and Company, USA) 26G vastagságú tűvel. A laboratóriumi méréseket 2 órán belül elvégeztük. Az állatokból csak vérminta vétele történ, az altatáson kívül semmilyen más beavatkozáson nem estek át.

A membránstabilitási mérések összevetése céljából, a vérmintákból három különböző vizsgálati mintát készítettünk (0,2 mL minta végtérfogat): natív vér, csökkentett haematocrit értékű minta (haemodilutum) és csökkentett deformabilitású minta (rigiddé tett sejtek):

- 1. *mintatípus*: natív vérminta, ami semmilyen kémiai vagy fizikai kezelést nem kapott,
- 2. *mintatípus*: 20 % (V/V) foszfát-pufferelt fiziológias sóoldattal (PBS) hígított keverék (200 $\mu$ L vérminta + 40  $\mu$ L PBS),
- 3. *mintatípus*: paraformaldehid (PFA) – glutáraldehid (GFA) keverékkel rigiddé tett vörösvérsejtek. Ebben az esetben készítettünk egy 2%-os PFA-GFA törzsoldatot. Ebből az oldatból 1  $\mu$ L-t adtunk 2 mL polyvinil-pyrrolidion (PVP) oldathoz, hogy  $1 \times 10^{-5}$  % (V/V) oldatot kapjunk, amiben szuszpendáltuk a vörösvérsejteket, közvetlenül a mérés előtt.

Megmértük az általános haematológiai paramétereiket (vörösvérsejt szám (Vvs [T/L]), haematocrit értéket (Htc [%]), haemoglobin koncentrációt (Hgb [g/dL]), átlagos vörösvérsejt térfogat (MCV [fL]), átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (MCH [pg]), átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (MCHC [g/dL]) és thrombocyta szám (Thr [G/L])) valamint a vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás értékeket, mivel ezek a mérések a vörösvérsejtek érpályában való viselkedésére szolgáltatnak adatokat.

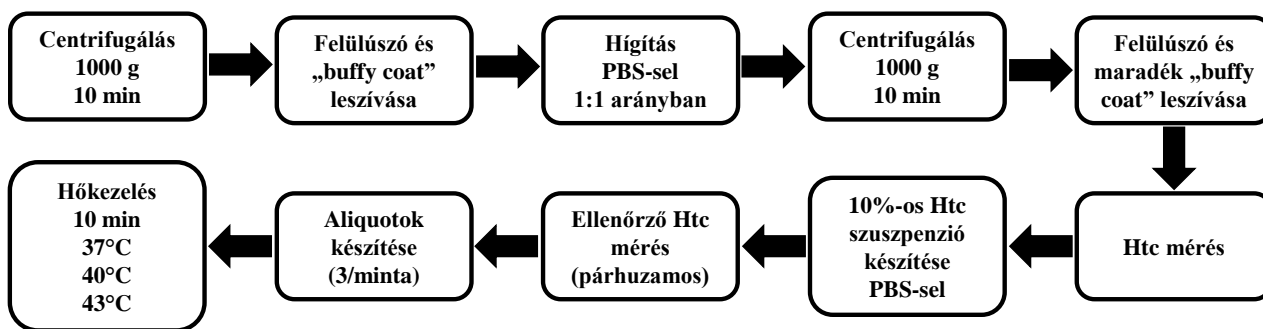
#### ***4.2.2. A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására***

A kísérletbe 7 egészséges – 25 és 35 év közötti – férfit vontunk be. Mintavétel történt továbbá 7 hím Sprague-Dawley patkányból (testtömeg  $312,7 \pm 70$  g), 6 hím beagle kutyából (testtömeg:  $18,05 \pm 2,05$  kg) és 6 nőstény Hungahib-39 sertésből (testtömeg:  $15,1 \pm 1,2$  kg).

A mintavételek férfiak esetében a vena mediana cubitiból történtek 21 G tűvel, 1,8 mg/mL K3-EDTA-t tartalmazó BD Vacutainer© csövekbe. A Sprague-Dawley patkányból a vena caudalisból (altatás: 60 mg/ttkg thiopental i.p.), hat hím beagle kutyából a vena cephalicából (altatás: 10 mg/ttkg ketamin + 1 mg/ttkg xylazin + 0,25 mg/ttkg diazepam i.m.) és 6 nőstény Hungahib-39 sertésből a vena saphenából (altatás 15 mg/ttkg ketamin + 1 mg/ttkg xylazin, i.m. A mintákat az összehasonlíthatóság miatt ugyanolyan típusú, 1,8 mg/mL K3-EDTA-t tartalmazó BD Vacutainer© csövekbe vettük le, mint a humán mintákat.

Első lépésben megmértük a minták natív haematocrit (Hct) értékét. Ezután szeparáltuk az alakos elemeket a vérplazmától egy 1000g erősségű, 10 percig tartó centrifugálással. Következő lépésben eltávolítottuk a plazma és fehérvérsejtek tartalmazó („buffy coat”) frakciót, majd 1:1 arányban foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldattal (PBS) hígítottuk a mintát. Majd egy újabb 1000g-s 10 perces centrifugálást követően eltávolítottuk a folyékony frakciót, és haematocrit mérést végeztünk. Az így kapott Hct értéket 100%-nak véve, 10%-os Hct szuszpenziókat készítettünk PBS-es, majd ellenőrző méréseket végeztünk kétszer, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a minta tényleges 10% Hct-ra van beállítva.

A kapott „törzsoldatokat” három fele osztottuk, és melegvizes fürdőbe (GFL Water Bath 1031, Scharlab Hungary Ltd., Hungary) merítettük őket 10 percre: 37°C, 40°C és 43°C-on. A mintákat egy 37°C-ra beállított száraz termosztátban tároltuk a mérések elvégzésig (Hardeman és mtsai 2007) (5. ábra).



### 5. ábra

Törzsoldatok készítésének menete

A LoRRca Maxis Osmoscan ektacytometeren deformabilitási és membránstabilitási méréseket 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44 és 45°C-on is elvégeztük ezzel szimulálva az inkrementális hőmérséklet emelkedés hatását a vérmintákra. Minden hőmérsékleten történt méréshez, új (37°C-on inkubált) mintát használtunk.

#### 4.2.3. Koleszterindús diéta haemorheológiai hatásai

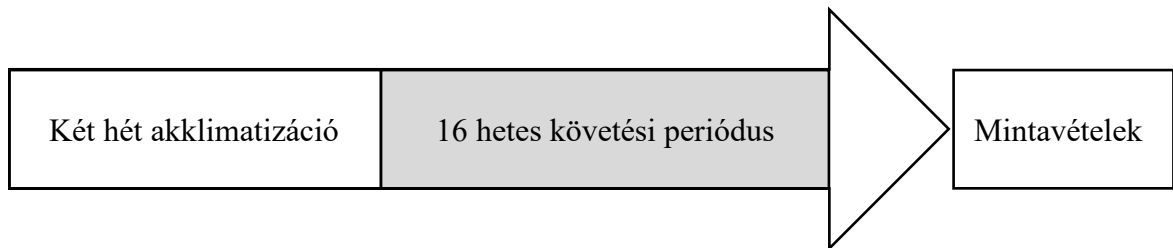
A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézettel, kollaborációban, a kísérletbe tizenkét, 20 hetes, hím, Kaliforniai-Új-zélandi fehér hibrid nyulat (CAL/NZW) vontunk be (Juráskó Kft. Debrecen, Magyarország). Az állatok testtömege a kísérlet kezdetén a kontroll csoportban  $2898 \pm 111\text{g}$  (n=6), míg a hypercholesterinaemiás (HC) csoportban  $2923 \pm 133\text{g}$  volt (n=6).

Az állatokat konvencionális állatházi körülmények között, 12-12 óra világos-sötét ciklust biztosítottunk. A kéthetes akklimatizációs időszak alatt az állatok normál nyúl tápot és vizet kaptak, *ad libitum*. Az akklimatizációs időszak után két 6-6 fős csoportra osztottuk az egyedeket.

Ezt követően egy tizenhat hetes periódus következett, amely során a kontroll csoport állatai normál nyúltápot kaptak, amíg a HC csoport állatai speciális 1% koleszterinnel és 1% telített

zsírsavval kiegészített tápot kaptak. A speciális, úgynevezett „atherogen” tápot a Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszertechnológiai Tanszéke készített el.

A tizenhat hét után, vérmintákat vettünk az állatokból és elvégeztük a tervezett haematologiai és haemorheologiai méréseket (6. ábra).



**6. ábra**

A kísérlet idővonala

A vérmintákat a nyúl fülvenájából (vena marginalis) vettük, 3mL térfogatú 1,8 mg/mL K3-EDTA antikoagulánst tartalmazó BD Vacutainer® csövekbe, és 20°C-on tartottuk a mérések elvégzésig. Minden laboratóriumi mérésre két órán belül került sor, elkerülve ezzel a minták károsodását.

Megmértük az általános haematologiai paramétereket, a teljes vér és plazma viszkozitást, valamint a vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás értékeket.

### **4.3. Laboratóriumi mérések, mintaelőkészítés**

#### **4.3.1. Haematologiai paraméterek**

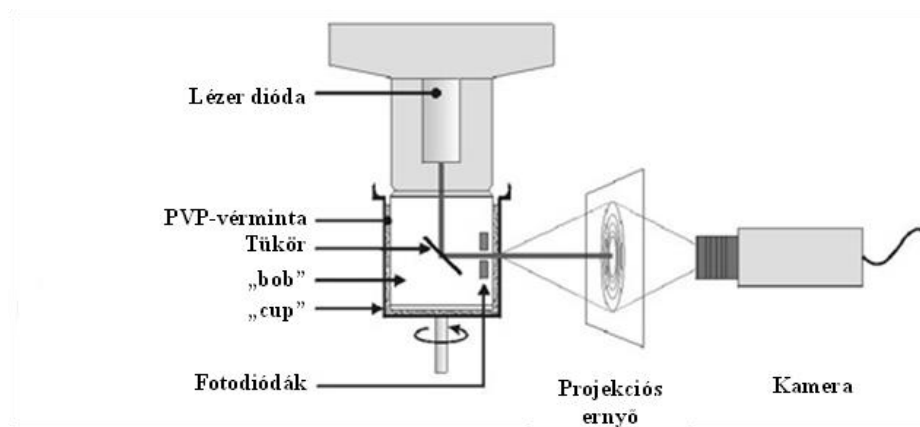
A kvalitatív és kvantitatív haematologiai paramétereket Sysmex K-4500 automatával (TOA Medical Electronics Co. LTd., Kobe, Japan) határoztuk meg: a vörösvérsejt számot ( $V_{vs}$  [T/L]), a haematocrit értéket (Htc [%]), a haemoglobin koncentrációt (Hgb [g/dL]), az átlagos vörösvérsejt térfogatot (MCV [fL]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalmát (MCH [pg])

az átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentrációt (MCHC [g/dL]) és a thrombocyta számot (Thr [G/L]).

#### 4.3.2. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás

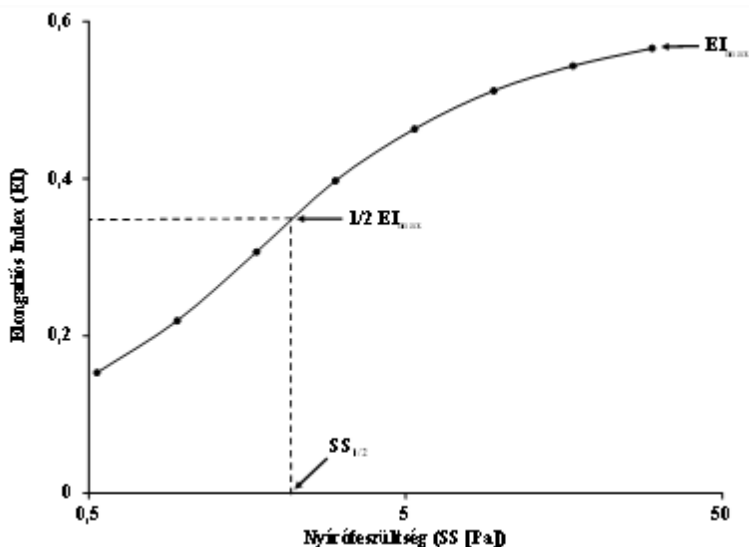
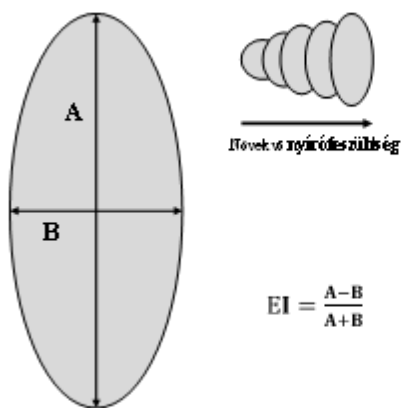
A vörösvérsejt deformabilitási és mechanikai stabilitási méréseket egy LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytométeren (Mechatronics BV, Hollandia) végeztük (Hardeman és mtsai 2007). Ehhez 10  $\mu$ L vért használunk fel, amit szuszpendálunk 2 mL polyvinyl-pyrrolidon (PVP) /foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldatban (PBS) oldatban.

A LoRRca ektacytometer, lézer diffrakciós elven méri a vörösvérsejtek nyíróerő hatására bekövetkező alakváltozását. A vörösvérsejt-PVP szuszpenziót egy folyamatosan forgó üveghengerbe úgynevezett „cup” -ba injektáljuk, amiben elhelyezkedik a lézerdiódát tartalmazó „bob”. A „bob” és „cup” között levő 3 milliméteres résbe juttatott minta egyenletes forgása hozza létre azt a folyadékköpenyt, melyet megvilágít a „bob”-ban levő lézerdióda (630nm) (7. ábra). A lézer a nyírás alatt levő vörösvérsejtekről visszaverődve (diffrakció) egy diffrakciós képet hoz létre, amit a műszer elemez (8. ábra).



7. ábra

Ektacytometriás mérés sematikus ábrája (Németh, 2020)



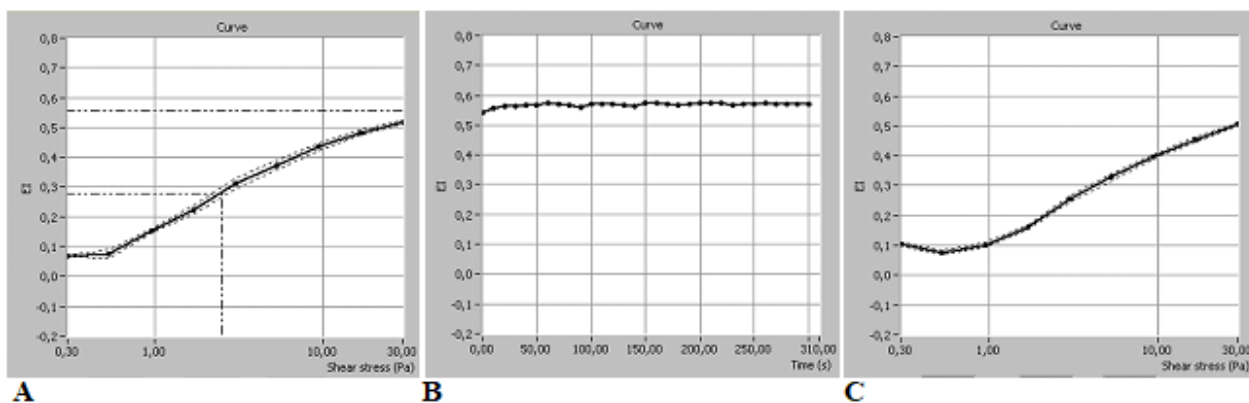
**8. ábra**

Az ektacytometriás mérések során nyert diffraktogrammból létrehozott elongációs index görbe a nyírófeszültség függvényében (EI-SS), és ezen görbe adatainak parametrizálásából nyert főbb értékek ( $EI_{max}$ ,  $SS_{1/2}$ ) (Németh, 2020) alapján

A vörösvérsejt deformabilitás meghatározásánál az elongációs index (EI) értékeket az alkalmazott nyírófeszültség (SS [Pa], 0,3-30 Pa intervallum) függvényében elemeztük (8. ábra). Az így kapott elongációs index-nyírófeszültség görbék összehasonlíthatósága végett, a 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index, a maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ), az ehhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$ ) és ezeknek az arányát ( $EI_{max}/SS_{1/2}$ ) használtuk fel. Az adatok elemezhetősége érdekében a Lineweaver-Burk illesztést alkalmaztuk (Baskurt és mtsai 2009b) az alábbi képlet szerint:

$$1/EI = SS_{1/2}/EI_{max} * 1/SS + 1/EI_{max}$$

A vörösvérsejt-membránstabilitás elemzéseknél a fent említett módon mért paramétereket mértük, annyi változtatással, hogy az alap deformabilitás (9. ábra A)



**9. ábra**

Vörösvérsejt membránstabilitási mérés képe a LoRRca műszeren. (A) deformabilitás, (B) 100 Pa, 300s mechanikai stressz, (C) deformabilitás (Sógor és mtsai 2016)

meghatározása után, egy 100 Pa-os, 300 másodpercig tartó mechanikai stressznek tettük ki a mintát (8. ábra B), majd végeztünk még egy deformabilitást mérés (9. ábra C) és az így kapott adatokat hasonlítottuk össze (Németh és mtsai 2016, Sógor és mtsai 2016).

### **4.3.3. Teljes vér- és plazma viszkozitás**

A teljes vér és plazma viszkozitás méréseket Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel  $90s^{-1}$  (Németh és mtsai 2009) nyírófeszültség mellett végeztük. A mérések kivitelezéséhez 0,6-0,7 mL teljes vér vagy vérplazma szükséges.

A készülék kétféle beállítás mellett vizsgálja a vérmintákat. A Cassoni-mérés a teljes vérhez használatos, és az eredmények kalkulálásánál figyelembe veszi, hogy nem-Newtoni folyadék mérése történik. A gravitációs elven működő készülék állandó nyírófeszültség mellett figyeli a (hőkontrollált) kapillárisban levő folyadékoszlop lefutási idejét, így kiszámítva a viszkozitást, amit mPas (1 mPas = 1 centipoise [cP]) mértékegységben ad meg.

Mivel a vér viszkozitás haematocrit-függő, ezért a kapott eredmények összehasonlíthatósága miatt alkalmaznunk kell a Mátrai-formulát:

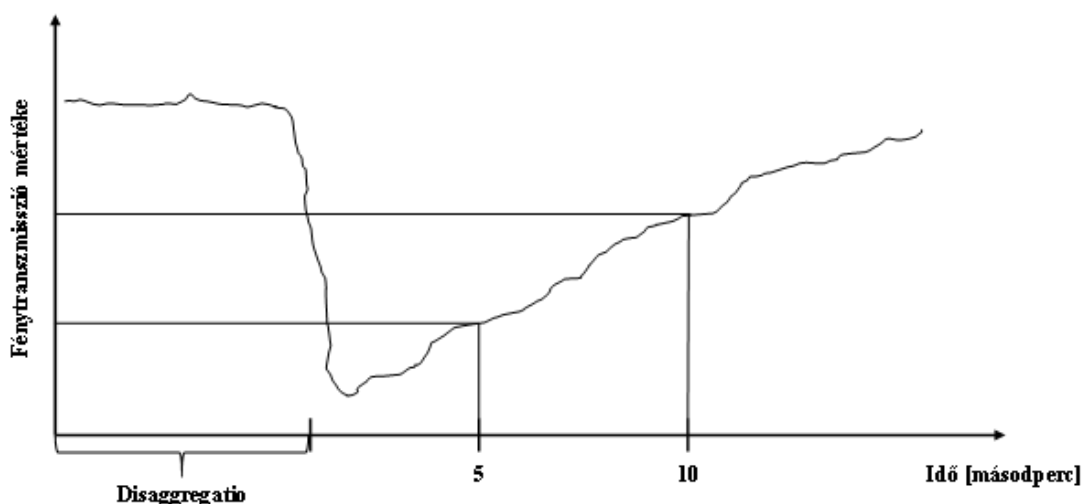
$$VV_1 = PV \left( \frac{VV_0}{PV} \right)^{\frac{Htk_1}{Htk_0}}$$

amelyben a  $VV_1$  a korrigált haematocrit érték,  $PV$  a plazma viszkozitás,  $VV_0$  a mért teljes vér viszkozitás,  $Htk_1$  az a haematocrit érték, amire korrigálni akarunk, ez esetünkben 40% és a  $Htk_0$  a natív haematocrit érték.

#### 4.3.4. Vörösvérsejt aggregációs mérések

A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer (Myrenne GmbH, Németország) az aggregációt, fény-transzmissziós elvén méri (Schmid-Schönbein és mtsai 1990) (10. ábra).

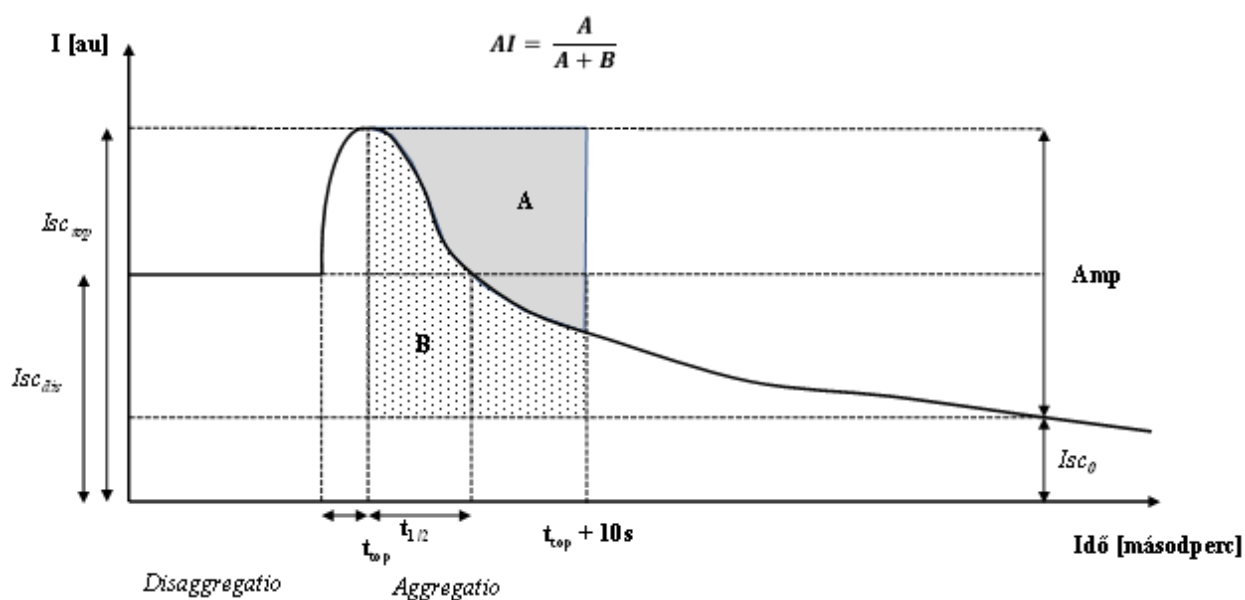
A készülék a mintán áthaladó infravörös fény intenzitás változásából határozza meg a vörösvérsejtek aggregálódásának mértékét (13. ábra). A 20 $\mu$ L vérmintát az eszköz disaggregálja (600 s<sup>-1</sup> nyírófeszültséggel), majd 5 és 10 másodperc után megkapjuk az aggregációs index értékeket, M (stasis vagy 0 s<sup>-1</sup>) és M1 (alacsony nyírófeszültség 3s<sup>-1</sup>) mellett (Baskurt és mtsai 2009, Hardeman és mtsai 2007).



10. ábra

Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer működési elvének sematikus rajza (Németh, 2020) alapján

A LoRRca Maxsis Osmoscan ektacytometer (Mechatronics BV, Hollandia), vörösvérsejt aggregációt syllectometriás elven vizsgálja. Az eszköz Couette-rendszert használva, lézerdiffrakciós elven méri a mintákat (syllectometriás aggregometria) (11. ábra). A vérmintáról disaggregáció után visszaverődő lézergyén intenzitás-változás függvényéből egy intenzitás-idő görbét hoz létre az eszköz, így az ektacytometer a Myrenne készülékkel ellentétben nem csak statikus aggregációs index adatokat prezentál, hanem az esemény dinamikájáról is eredményeket szolgáltat (Baskurt és mtsai 2009, Hardeman és mtsai 2007).



**11. ábra**

A LoRRca által készített syllectometriás aggregometria mérés sematikus ábrája (Németh, 2020) alapján

#### 4.3.5. Statisztikai elemzések

A statisztikai elemzésekhez GraphPad Prism 8.0-ás szoftvert használtunk (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Általánosságban, az adatok eloszlásának függvényében a csoportok közötti és csoportokon belüli eltérések elemzésére egy-, illetve kétirányú ANOVA módszereket, a csoportok között adott időpontban egyszerű összehasonlításként t-tesztet vagy

Mann-Whitney tesztet is használtunk. A mechanikai stressz előtti és utáni EI értékek összehasonlítására páros t-tesztet vagy Wilcoxon-tesztet használtunk, szintén az adatok eloszlásától függően.

Mindegyik tanulmányban a  $p < 0,05$  értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

A mechanikai stabilitási tesztek vonatkozásában azt vizsgálva, hogy a változásokat melyik paraméter mutatja ki a legérzékenyebben, a standardizált differencia értékeket számítottuk ki (Stuart és mtsai 1989) a következő képlet alapján:

$$(\text{átlag}_x - \text{átlag}_y) / \sqrt{\sum (S.D._x^2; S.D._y^2)}$$

ahol:  $\text{átlag}_x$  és  $\text{átlag}_y$  a vizsgálat csoportok átlaga;  $S.D._x$  és  $S.D._y$  pedig a csoportok szórása.

## 5. EREDMÉNYEK

### 5.1. Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai

A kutatás célja az volt, hogy megállapítsuk, hogy a haemodilutio, illetve a kevésbé deformálhatóvá vált vörösvérsejtek milyen jellegzetes változásokat mutatnak, illetve mely paraméter mutatja legérzékenyebben az elváltozásokat. A PBS-oldattal történő haemodilutum készítést (0,2 % (V/V)) ellenőrző mérésekkel igazoltuk, a mért Htc [%]  $19,75 \pm 6,58$ ; a vörösvérsejt szám [T/L]  $18,45 \pm 3,03$  és a haemoglobin koncentráció [g/dL]  $19,2 \pm 3,07$  értékekre csökkentek a natív vérmintákhoz képest (II. táblázat).

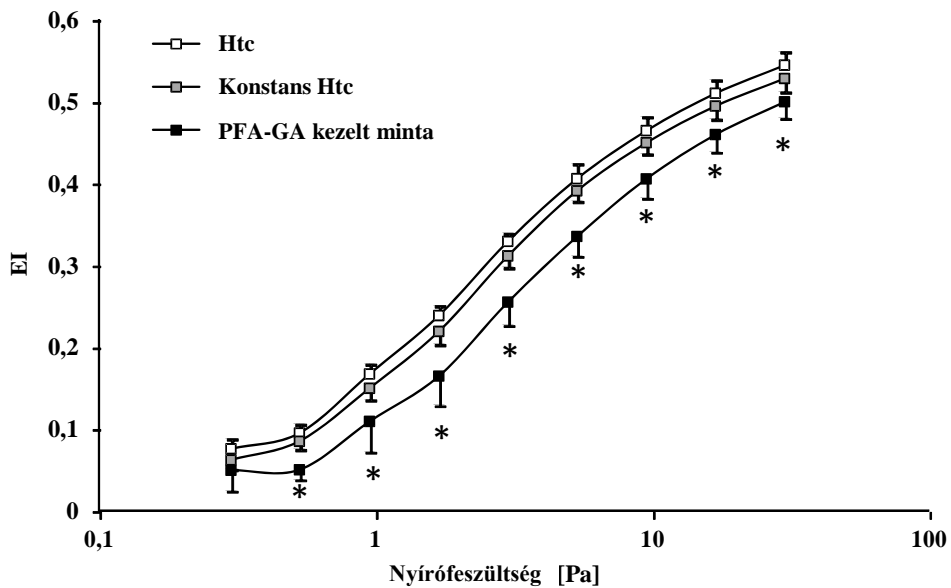
II. táblázat Haematologiai értékek, a natív és hígított mintákban

Paraméter	Htc	Konstans Htc
Vörösvérsejt szám [T/L]	$6,9 \pm 0,44$	$5,63 \pm 0,45$ *
Haemoglobin koncentráció [g/dL]	$11,69 \pm 0,42$	$9,45 \pm 0,59$ *
Haematocrit [%]	$40,81 \pm 3,01$	$32,67 \pm 2,7$ *
MCV [fL]	$59,09 \pm 1,28$	$58,06 \pm 2,73$
MCH [pg]	$16,99 \pm 1,02$	$16,82 \pm 0,84$
MCHC [g/dL]	$28,76 \pm 2,08$	$28,98 \pm 1,1$

(átlag  $\pm$  S.D.; \*:  $p < 0,05$  vs. natív)

A membránstabilitási teszt előtti deformabilitás méréseket standard deformabilitás mérésnek tekintettük a vizsgálatok során. A konstans Htc csoport EI értékei alacsonyabbak voltak a natív vérmintákhoz képest. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index ( $p = 0,049$  vs. natív) és  $EI_{max}$  csökkent ezekben a mintákban, az  $SS_{1/2}$  nem mutatott szignifikáns eltérést. A PFA-GA kezelt csoport esetében, a szer okozta rigidség miatt, csökkent deformabilitás mutatkozott: alacsonyabb EI értékek (EI 3Pa-nál:  $p = 0,008$  vs. natív;  $p = 0,004$  vs. hígított), csökkentek az  $EI_{max}$  értékek ( $p = 0,017$  vs. natív), növekedtek az  $SS_{1/2}$  értékek ( $p = 0,016$  vs. natív;  $p = 0,012$

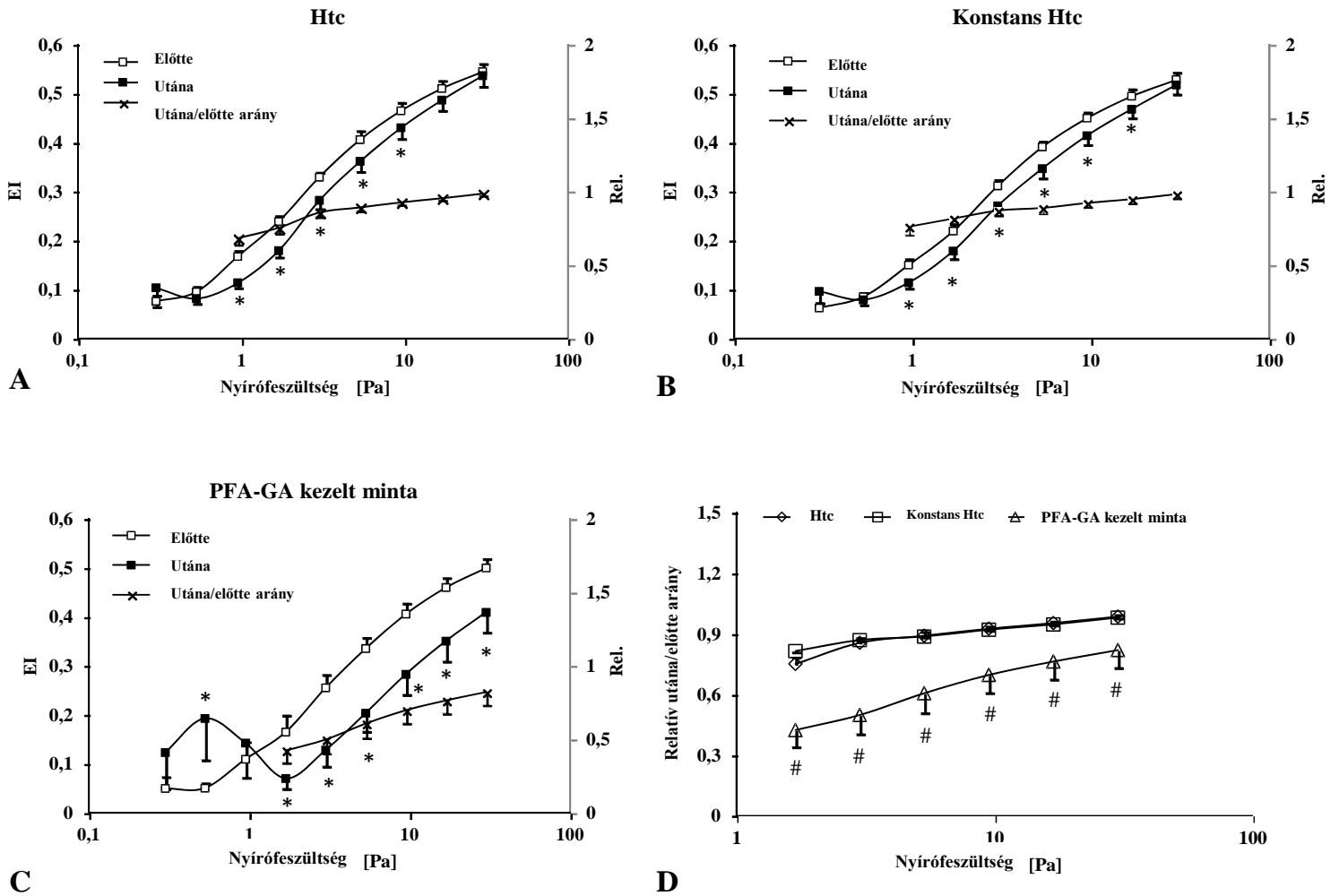
vs. hígított) és csökkent az  $EI_{\max}/SS_{1/2}$  arány is ( $p = 0,004$  vs. Htc;  $p = 0,017$  vs. Konstans Htc) (12. ábra).



**12. ábra**

EI-SS görbék a Htc, Konstans Htc, és PFA-GA kezelt minta tett vér esetén  
(átlag  $\pm$  S.D.; \*:  $p < 0,05$  vs. natív)

A vörösvérsejt membránstabilitási mérésnél alkalmazott mechanikai stressz (100Pa 300s) utáni EI értékekben az előzőekhez képest is szignifikáns csökkenést észleltünk a minták kezelési formájától függően (13. ábra A és C, III. táblázat).



13. ábra

EI-SS görbék a 100 Pa 300s-es mechanikai stressz előtt és után. (A) Htc; (B) Konstans Htc; (C) PFA-GA (0,00001%) kezelt minta; (D) az EI értékek relatív változása a nyírófeszítés függvényében (átlag ± S.D.; \*:  $p < 0,05$  vs. előtte, #:  $p < 0,05$  vs. natív)

**III. táblázat** Az EI-SS görbékből a mechanikai stressz előtt és után nyert komparatív paraméterek natív Htc, konstans Htc és PFA-GA kezelt minta esetén

Paraméter	Teszt	Natív Htc	Konstans Htc	PFA-GA kezelt minta
EI 3Pa-nál	előtte (B)	0,329 ± 0,01	0,311 ± 0,013	0,254 ± 0,027 *
	utána (A)	0,281 ± 0,016 #	0,270 ± 0,017 #	0,127 ± 0,32 *#
	arány (A/B)	0,85 ± 0,27	0,86 ± 0,03	0,49 ± 0,09 *
EI <sub>max</sub>	előtte (B)	0,576 ± 0,016	0,557 ± 0,021	0,537 ± 0,024 *
	utána (A)	0,554 ± 0,019	0,539 ± 0,021	0,414 ± 0,04 *#
	arány (A/B)	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,02	0,77 ± 0,08 *
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	előtte (B)	2,48 ± 0,09	2,58 ± 0,17	3,49 ± 0,61 *
	utána (A)	3,94 ± 0,51 #	3,97 ± 0,61 #	9,08 ± 1,42 *#
	arány (A/B)	1,59 ± 0,22	1,53 ± 0,13	2,62 ± 0,32 *
EI <sub>max</sub> /SS <sub>1/2</sub> [Pa <sup>-1</sup> ]	előtte (B)	0,232 ± 0,01	0,216 ± 0,016	0,158 ± 0,039 *
	utána (A)	0,142 ± 0,022 #	0,138 ± 0,024 #	0,047 ± 0,011 *#
	arány (A/B)	0,61 ± 0,1	0,63 ± 0,06	0,29 ± 0,05 *

(átlag ± S.D.; \*: p < 0,05 vs. natív; #: p < 0,05 vs. előtte)

A natív és konstans Htc minták között jelentős különbségeket nem találtunk. A PFA-GA kezelt minták esetén a legnagyobb eltérések az SS<sub>1/2</sub> és EI<sub>max</sub>/SS<sub>1/2</sub> mechanikai stressz utáni és előtti értékek összehasonlításakor mutatkoztak. Ezek az eltérések szignifikánsak voltak a natív vérmintával összevetett abszolút (p < 0,001) és relatív (p < 0,001) értékekben is. A mechanikai stressz után és előtt kapott EI értékek arányait a 16. ábra D része szemlélteti. A görbék lefutása között jelentős különbségeket regisztráltunk. Mivel az EI utána/előtte vs. nyírófeszültség görbék nem minden esetben mutattak lineáris karakterisztikát, így többféle görbe illesztési módszert is alkalmaztunk. A IV. táblázat összefoglalja az R<sup>2</sup> értékeket lineáris, exponenciális polinomiális (másodfokú) és logaritmusos görbe illesztések esetén.

**IV. táblázat** A használt görbe illesztési módszerek  $R^2$  értékeit összehasonlító táblázat

Adatpontok	Görbe illesztési módszer	Htc	Konstans Htc	PFA-GA kezelt minta
Utána/előtte EI értékek aránya a nyírófeszültség függvényében	lineáris	0,622	0,7285	0,7946
	exponenciális	0,5792	0,695	0,728
	másodfokú polinomiális	0,8338	0,8831	0,9654
	logaritmikus	0,9342	0,9743	0,9895
EI értékek az idő függvényében a mechanikai stressz alatt	lineáris	0,4562	0,7462	0,667
	exponenciális	0,4522	0,7425	0,6656
	másodfokú polinomiális	0,6754	0,7661	0,8609
	logaritmikus	0,9018	0,7391	0,15

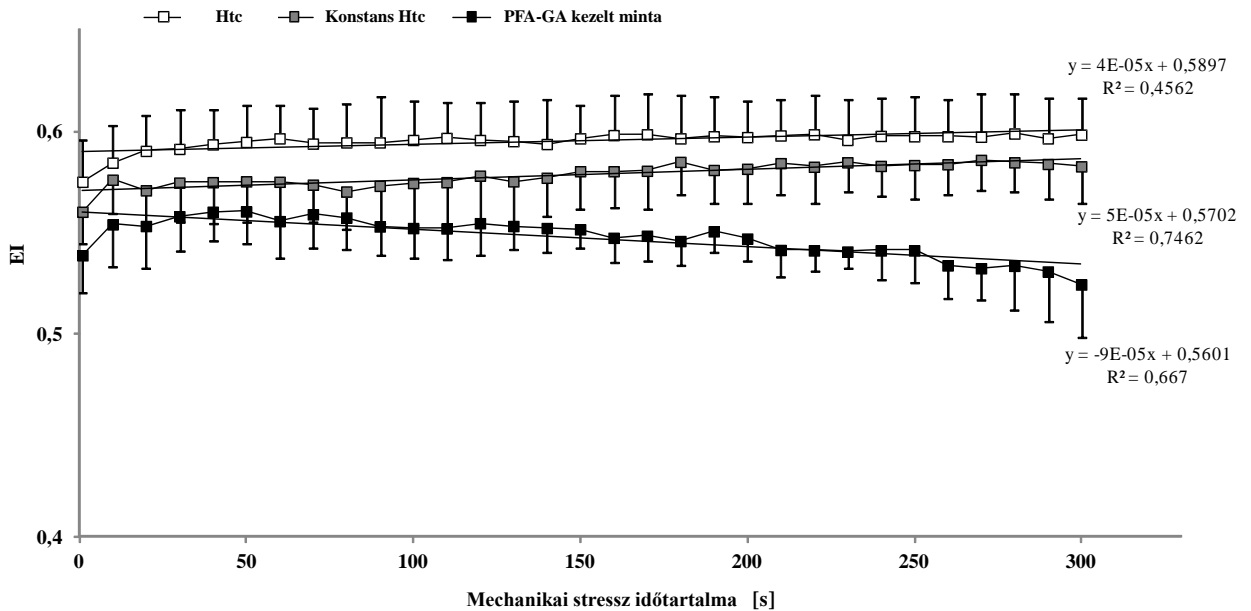
**V. táblázat** Standardizált differencia értékek vs. natív vérminta értékei a komparatív paraméterek tekintetében

Paraméter	Teszt	Konstans Htc	PFA-GA kezelt minta
EI 3Pa-nál	előtte (B)	1,46	3,52
	utána (A)	0,65	6,02
	arány (A/B)	0,45	5,27
$EI_{\max}$	előtte (B)	0,98	1,89
	utána (A)	0,72	4,4
	arány (A/B)	0,2	3,09
$SS_{1/2}$ [Pa]	előtte (B)	0,7	2,32
	utána (A)	0,06	4,79
	arány (A/B)	0,3	3,65
$EI_{\max}/SS_{1/2}$ [ $Pa^{-1}$ ]	előtte (B)	1,15	2,53
	utána (A)	0,18	5,38
	arány (A/B)	0,22	3,83
az EI utána/előtte arány – nyírófeszültség görbe meredeksége ( $m$ )		2,17	0,99
az EI – idő a mechanikai stressz alatt görbe meredeksége ( $m$ )		0,006	1,58

A natív és PFA-GA kezelt minták esetében a vizsgált paraméterek többsége 3,0 fölötti standardizált differencia mutatott (V. táblázat). A stabilitás teszt előtti értékek mellett, a legnagyobb standardizált differencia a következő esetekben találtuk:  $EI_{\max}$  utána/előtte arány (3,09) <  $SS_{1/2}$  utána/előtte arány (3,65) <  $EI_{\max}/SS_{1/2}$  utána/előtte arány (3,83) <  $EI_{\max}$  stressz után (4,4) <  $SS_{1/2}$  stressz után (4,79) < elongációs index értéke 3 Pa nyírófeszültségnél, utána/előtte

arány  $(5,27) < EI_{\max}/SS_{1/2}$  stressz után  $(5,38) <$  elongációs index értéke 3 Pa nyírófeszültségnél, stressz után  $(6,02)$ .

A mechanikai stressz alatt bekövetkező EI változást a 14. ábra szemlélteti.



#### 14. ábra

Az EI-mechanikai nyírás időtartama görbék natív Htc, konstans Htc és PFA-GA kezelt mintákon. (átlag  $\pm$  S.D.; \*:  $p < 0,05$  vs. natív)

A konstans Htc vérminták és a PFA-GA kezelt vérminták mutattak alacsonyabb EI értékeket állandó nyírófeszültség mellett a 300 másodperces mechanikai stressz periódus alatt. Minden esetben a stressz periódus első 30 másodpercében egy enyhe emelkedés volt az EI értékekben, ezt követően az értékek nem növekedtek jelentősen. A meredekség ( $m$ ) értéke az EI-idő görbéknek szignifikáns különbséget mutatott ( $p = 0,037$  vs. Htc). Továbbá az  $m$  standard eltérés értéke 1,58 volt (V. táblázat).

## 5.2. A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására

### 5.2.1. Haematologiai paraméterek

Az kísérletbe vont fajok, így humán, patkány, kutya, sertés, általunk mért haematologiai paramétereinek alapértékeit. VI. táblázat mutatja be.

**VI. táblázat** Haematologiai paraméterek összehasonlító táblázata

Paraméter	Humán	Patkány	Kutya	Sertés
Fehérvérsejt szám [G/L]	8,38 ± 4,69	4,03 ± 1,16*##+	12,2 ± 2,08*+	15,67 ± 4,45*
Vörösvérsejt szám [T/L]	5,39 ± 0,32	7,29 ± 0,27*#	8,33 ± 0,58*+	6,78 ± 1,8*
Haemoglobin koncentráció [g/dL]	164 ± 11,62	134,86 ± 4,52*##+	188,33 ± 10,09*+	119,17 ± 27,98*
Haematocrit [%]	47,11 ± 2,85	40,63 ± 1,20*#	56,83 ± 3,75*+	38,95 ± 9,78*
MCV [fL]	87,41 ± 3,66	55,79 ± 1,47*#	68,23 ± 1,29*+	57,63 ± 2,08*
MCH [pg]	30,40 ± 1,2	18,54 ± 0,84*##+	22,62 ± 0,53*+	17,69 ± 0,74*
MCHC [g/dL]	348 ± 6,89	331,93 ± 7,71*+	331,75 ± 5,33*+	307,08 ± 7,73*
Thrombocytá [G/L]	246,58 ± 45,94	933,14 ± 167,98*##+	358,67 ± 142,81	507,33 ± 201,33*

átlag ± S.D.; \*: p < 0,05 vs. humán, #: p < 0,05 vs. kutya, +: p < 0,05 vs. sertés

A patkány, kutya és sertés minták szignifikánsan tértek el a humán mintákhoz képest. A fehérvérsejt szám alacsonyabb volt a patkányoknál (p < 0,05), míg a kutyák (p = 0,0095) és sertések (p = 0,001) esetén magasabb értékeket találtunk. A vörösvérsejt szám minden faj esetében magasabb volt az emberénél (p < 0,001 vs. patkány és kutya, p = 0,0144 vs. sertés). Ezzel szemben az embernél mértük a magasabb MCV értékeket (p < 0,001 vs. patkány, kutya és sertés). A Htc értékek alacsonyabbak voltak a patkánynál (p < 0,001) és sertésnél (p = 0,0371), a kutyák esetén viszont magasabbak (p < 0,001) a humán mintákhoz képest. A thrombocytá szám

mindegyik állatfajnál magasabb értékeket mutatott az emberével összevetve (mindegyik faj:  $p < 0,001$  vs. humán).

### 5.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás vizsgálatok

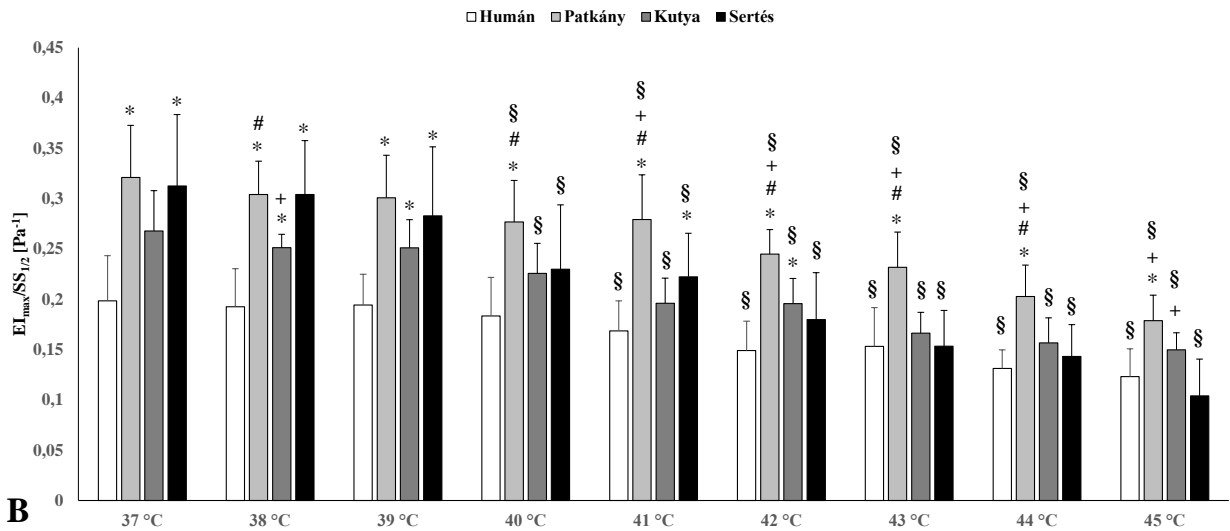
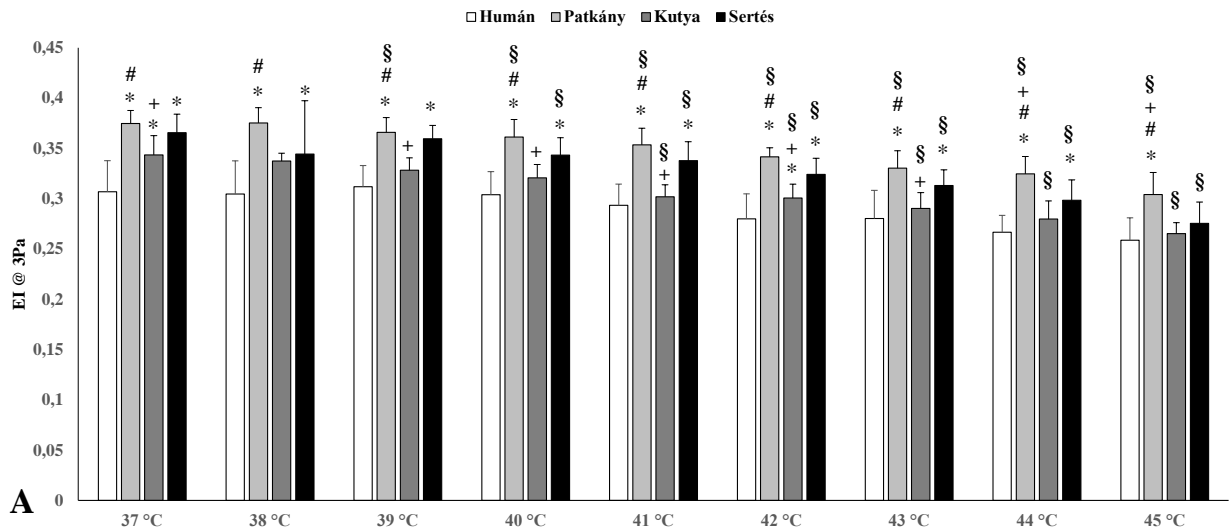
**VII. táblázat** Az “alap” EI-SS görbékből származtatott paraméterek

Paraméter	Humán	Patkány	Kutya	Sertés
EI 3Pa-nál	$0,318 \pm 0,021$	$0,374 \pm 0,013^{*}\#$	$0,343 \pm 0,019^{*+}$	$0,365 \pm 0,018^{*}$
$EI_{max}$	$0,612 \pm 0,24$	$0,609 \pm 0,018\#+$	$0,588 \pm 0,02+$	$0,549 \pm 0,015^{*}$
$SS_{1/2}$ [Pa]	$2,94 \pm 0,61$	$1,95 \pm 0,37^{*}$	$2,25 \pm 0,41^{*}$	$1,84 \pm 0,42^{*}\#$
$EI_{max}/SS_{1/2}$ [ $Pa^{-1}$ ]	$0,213 \pm 0,035$	$0,321 \pm 0,051^{*}$	$0,267 \pm 0,039^{*}$	$0,312 \pm 0,071^{*}$

(átlag  $\pm$  S.D.; \*:  $p < 0,05$  vs. humán, #:  $p < 0,05$  vs. kutya, +:  $p < 0,05$  vs. sertés)

A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index értékek szignifikáns eltérést mutattak minden vizsgált állatfaj esetében a humán mintákkal összevetve (mindegyik faj:  $p < 0,001$  vs. humán) (VII. táblázat). Az  $EI_{max}$  értékek a kutya ( $p = 0,019$  vs. patkány,  $p < 0,001$  vs. sertés) és sertés ( $p < 0,001$  vs. humán és patkány) esetén mutattak alacsonyabb mértéket. Az  $SS_{1/2}$  értéke minden állatfajnál alacsonyabb volt a humán mintákhoz képest (patkány:  $p < 0,001$ ; kutya  $p = 0,007$ ; sertés:  $p < 0,001$  vs. humán). Az  $EI_{max}/SS_{1/2}$  arány mindegyik faj esetén magasabb értékeket számítottunk (patkány:  $p < 0,0001$ ; kutya; sertés:  $p = 0,004$ ) a humán mintákhoz képest.

A vörösvérsejt deformabilitás ( $EI_{max}$ ,  $EI_{max}/SS_{1/2}$ ) csökkenő tendenciát mutatott a teljes vérmintákban, a vizsgált hőmérséklet emelkedésével (37-45°C). 37-39°C között a csökkenés mértéke minimális volt, azonban 39°C-nál magasabb hőmérsékleteken kifejezetten látványossá vált (15. ábra).



15. ábra

A. EI 3 Pa-nál mért fajok közötti összehasonlítása, B. EI<sub>max</sub>/SS<sub>1/2</sub> értékek fajok közötti összehasonlítása a hőmérséklet függvényében (átlag ±S.D.; \*p < 0,05 vs. humán, #p < 0,05 vs. kutya, +p < 0,05 vs. sertés, §p < 0,05 vs. 37°C.)

Az adatpontokra illesztett egyenesek meredeksége és regressziós értékei a VIII. táblázatban találhatóak.

**VIII. táblázat** Vörösvérsejt deformabilitási adatok értékei a hőmérséklet függvényében

Görbe	Változó	Humán	Patkány	Kutya	Sertés
EI 3Pa-nál a hőmérséklet függvényében (37-45°C és 39-45°C)	m	-0,006	-0,008	-0,009	-0,01
		<i>-0,008</i>	<i>-0,01</i>	<i>-0,01</i>	<i>-0,013</i>
	R <sup>2</sup>	0,891	0,955	0,985	0,903
		<i>0,979</i>	<i>0,969</i>	<i>0,977</i>	<i>0,976</i>
EI <sub>max</sub> értékek a hőmérséklet függvényében (37-45°C és 39-45°C)	m	0,013	0,004	0,006	0,028
		<i>0,014</i>	<i>0,006</i>	<i>0,008</i>	<i>0,032</i>
	R <sup>2</sup>	0,971	0,587	0,899	0,856
		<i>0,956</i>	<i>0,739</i>	<i>0,926</i>	<i>0,854</i>
SS <sub>1/2</sub> értékek a hőmérséklet függvényében (37-45°C és 39-45°C)	m	0,38	0,203	0,282	0,744
		<i>0,474</i>	<i>0,263</i>	<i>0,335</i>	<i>0,959</i>
	R <sup>2</sup>	0,923	0,861	0,949	0,796
		<i>0,965</i>	<i>0,959</i>	<i>0,969</i>	<i>0,816</i>
EI <sub>max</sub> /SS <sub>1/2</sub> értékek a hőmérséklet függvényében (37-45°C és 39-45°C)	m	-0,01	-0,017	-0,016	-0,027
		<i>-0,012</i>	<i>-0,02</i>	<i>-0,017</i>	<i>-0,028</i>
	R <sup>2</sup>	0,948	0,959	0,971	0,982
		<i>0,964</i>	<i>0,967</i>	<i>0,952</i>	<i>0,973</i>

(m=EI-hőmérséklet görbe meredeksége; R<sup>2</sup>: EI-hőmérséklet görbe regressziós értéke<sup>2</sup>)

A 10% haematocrit értékre beállított PBS-vvs szuszpenziók (humán: 10,46 ± 0,46%; patkány 9,61 ± 1,43%; kutya: 10,54 ± 0,58; sertés: 9,9 ± 0,68) szignifikáns deformabilitás romlást mutattak a hőkezelés hatására (IX. táblázat).

**IX. táblázat** Vörösvérsejt deformabilitás változások hőkezelés hatására PSB-vvs szuszpenziókban  
(Htc = 10%)

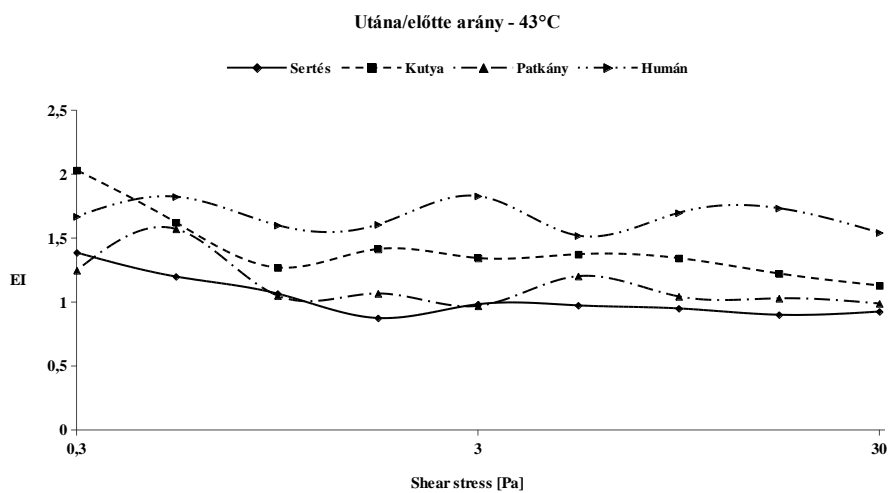
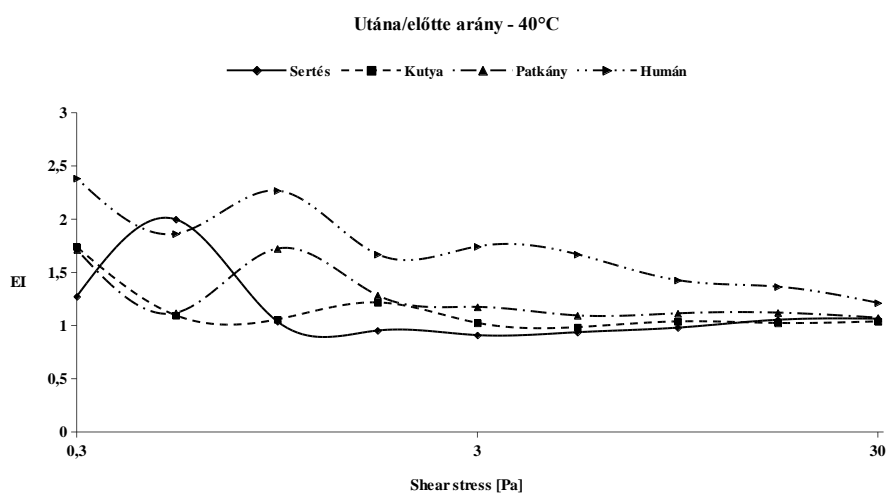
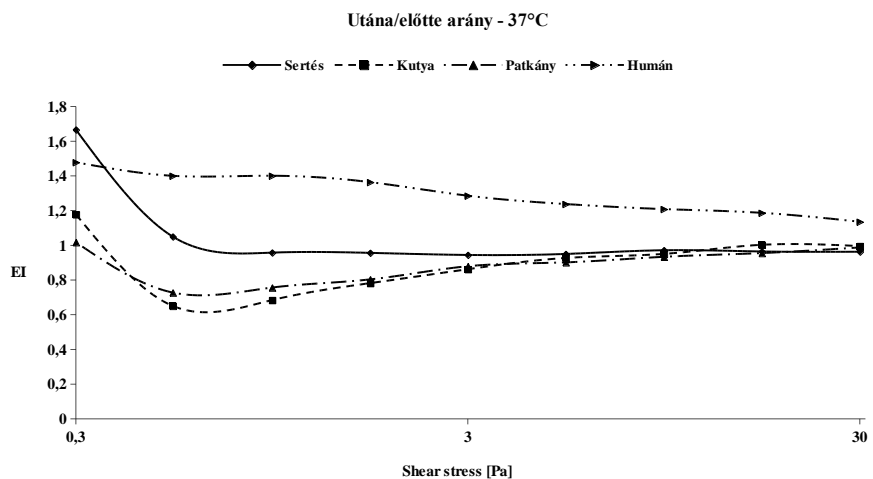
Paraméter	Hőmérséklet	Humán	Patkány	Kutya	Sertés
EI 3Pa-nál	37°C	0,142 ± 0,025	0,365 ± 0,02*#	0,289 ± 0,028*+	0,349 ± 0,039*
	40°C	0,053 ± 0,017§	0,158 ± 0,033*#§	0,246 ± 0,077*+	0,149 ± 0,036*§
	43°C	0,048 ± 0,02§	0,117 ± 0,034*§	0,134 ± 0,031*§	0,123 ± 0,025*§
EI <sub>max</sub>	37°C	0,221 ± 0,039	0,550 ± 0,041*#+	0,481 ± 0,038*	0,484 ± 0,056*
	40°C	0,088 ± 0,019§	0,220 ± 0,056*#§	0,504 ± 0,153*+	0,218 ± 0,068*§
	43°C	0,057 ± 0,033§	0,128 ± 0,031*#§	0,266 ± 0,024*+§	0,148 ± 0,025*§
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	37°C	1,7 ± 0,59	1,63 ± 0,2#	2,15 ± 0,43+	1,26 ± 0,3
	40°C	2,71 ± 0,97	1,2 ± 0,4*#§	2,72 ± 0,71+	1,61 ± 0,6*
	43°C	5,22 ± 2,47§	1,33 ± 0,34*	3,34 ± 2,1	1,13 ± 0,21*
EI <sub>max</sub> /SS <sub>1/2</sub> [Pa <sup>-1</sup> ]	37°C	0,143 ± 0,055	0,339 ± 0,03*#	0,232 ± 0,05*+	0,401 ± 0,087*
	40°C	0,037 ± 0,017§	0,188 ± 0,034*+§	0,182 ± 0,025*	0,144 ± 0,043*§
	43°C	0,013 ± 0,009§	0,111 ± 0,06*§	0,111 ± 0,063*§	0,134 ± 0,042*§

(átlag ± S.D.; \*: p < 0,05 vs. humán; #: p < 0,05 vs. kutya; +: p < 0,05 vs. sertés; §: p < 0,05 vs. 37°C)

Az elongációs index 3 Pa nyírófeszültségnél és az EI<sub>max</sub> csökkent a hőmérséklet emelkedésével, míg az SS<sub>1/2</sub> növekedett. Az EI<sub>max</sub>/SS<sub>1/2</sub> arány eltérő mértékben csökkent a vizsgálat fajok tekintetében. A hőkezelés hatására a humán PBS-vér szuszpenziók voltak a legérzékenyebbek, míg a kutya mintáiban következett be a legkisebb mértékű változás.

### 5.2.3. Vörösvérsejt membránstabilitási vizsgálatok

A 37°C-on inkubált PBS-vvs szuszpenziók mechanikai stressz utáni EI értékeiben a patkány, kutya és sertés minták értékei csökkentek, ezzel szemben a humán mintáknál emelkedés volt tapasztalható. A 40 és 43°C-os inkubációt követően a patkány és kutya minták értékei is emelkedtek, míg a sertés minták értékei alacsonyok maradtak (16. ábra).



**16. ábra**

A mechanikai stressz után és előtt mért EI aránya a nyírófeszültség függvényében esetében 37°C, 40°C és 43°C-on a hőkezelt minták.

### 5.3. Koleszterindús diéta haemorheologiai hatásai

#### 5.3.1. Testtömeg változások

A testtömeg adatok a kísérlet tizenhatodik hetére szignifikáns különbségeket mutattak a kísérleti csoportok között. A kontroll csoport testtömege  $3087 \pm 56$  g ( $p = 0,004$  vs. alap), a HC csoport  $4121 \pm 61$  g ( $p = 0,002$  vs. alap,  $p < 0,001$  vs. kontroll) volt.

#### 5.3.2. Haematologiai eredmények

A X. táblázat összegzi a haematologiai adatokat. Jól látható, hogy a fehérvérsejt szám, a vörösvérsejtek átlagos térfogata és thrombocytá szám szignifikánsan magasabb volt a HC csoportban a tizenhatodik hét végére. A vörösvérsejtek átlagos haemoglobin tartalmában nem történt számottevő változás. A vörösvérsejt szám, a haemoglobin és a vörösvérsejtek átlagos haemoglobin koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt a HC csoportban a kontrollhoz képest.

#### X. táblázat Haematologiai eredmények

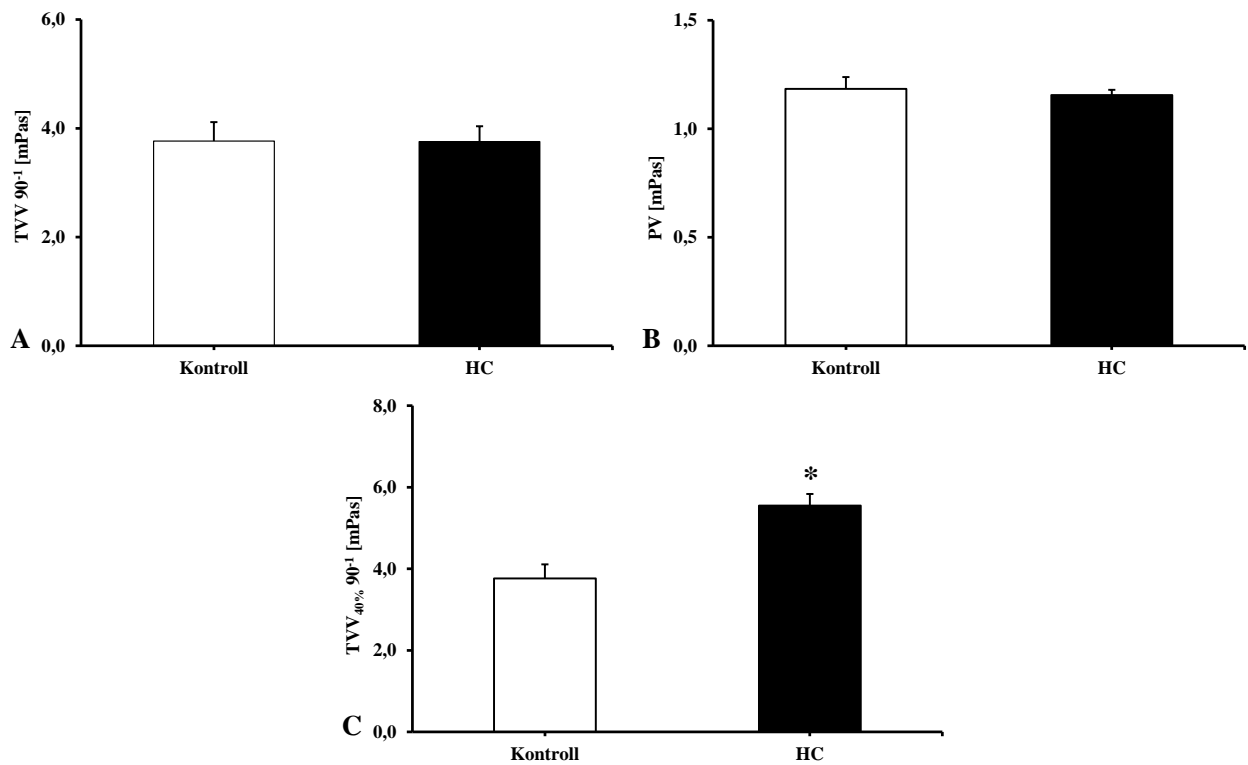
Haematologiai paraméter	Kontroll (n=6)	HC (n=6)	p - érték
Fehérvérsejt szám [ $\times 10^9/L$ ]	$8,38 \pm 0,27$	$23,59 \pm 4,76$	0,0042
Vörösvérsejt szám [ $\times 10^{12}/L$ ]	$6,86 \pm 0,13$	$3,76 \pm 0,25$	<0,0001
Haemoglobin [g/dL]	$15,25 \pm 0,27$	$8,39 \pm 0,56$	<0,0001
Haematocrit [L/L]	$46,37 \pm 0,93$	$29,38 \pm 1,73$	<0,0001
MCV [fL]	$67,58 \pm 0,47$	$78,88 \pm 2,43$	0,0001
MCH [pg]	$22,22 \pm 0,258$	$22,50 \pm 0,76$	0,7267
MCHC [g/L]	$32,9 \pm 0,27$	$28,82 \pm 1,27$	0,0047
Thrombocytá [ $\times 10^9/L$ ]	$254,8 \pm 27,54$	$481,5 \pm 38,73$	<0,0001

(átlag  $\pm$  SEM)

### 5.3.3. Haemorheologiai eredmények

#### 5.3.3.1. Teljes vér és plazma viszkozitás

A teljes vér viszkozitás értékeket 40% haematocrit értékre korigáltuk. A HC csoport értékei szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva. A plazma viszkozításban nem mutatkozott számottevő különbség (17. ábra).

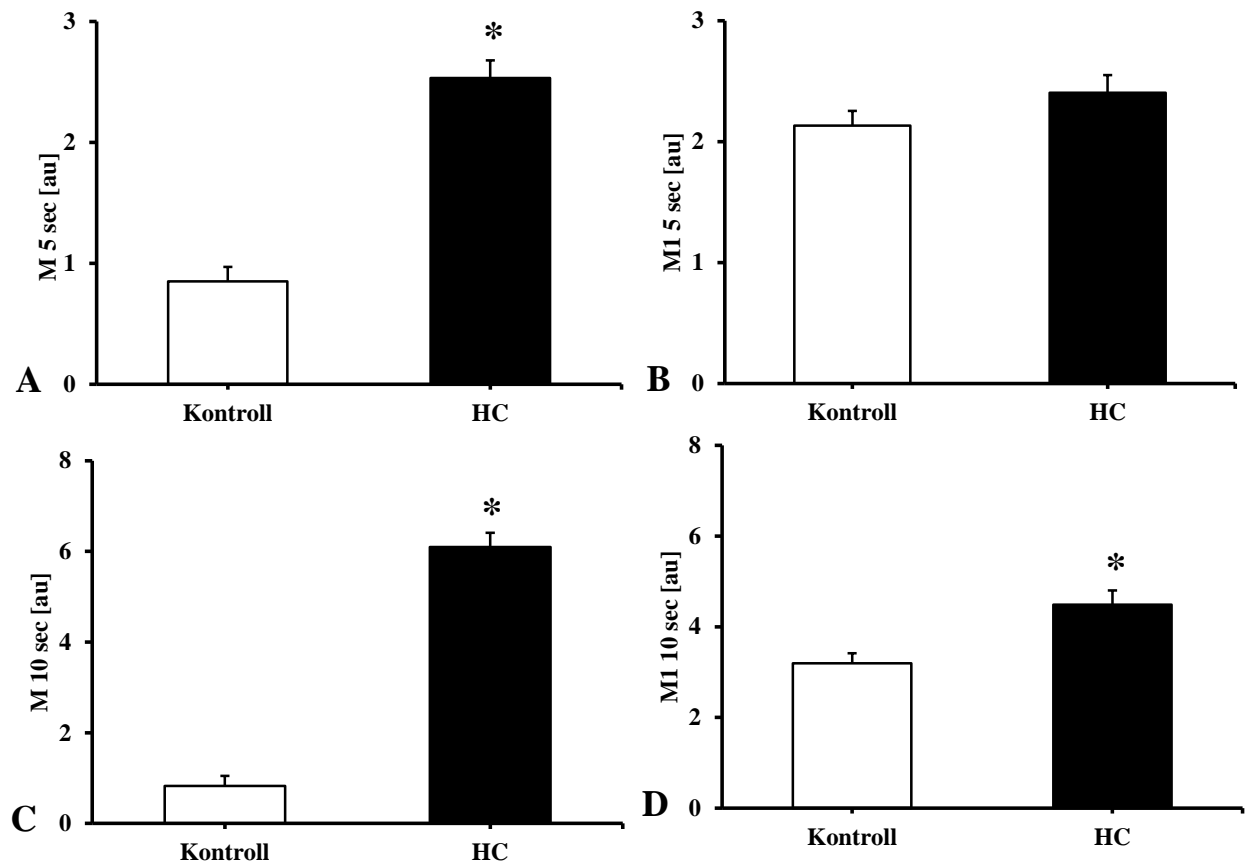


**17. ábra**

A. Teljes vér viszkozitás. B. plazma viszkozitás.  
C. 40% Htc értékre korigált teljes vér viszkozitás  
(átlag ± SEM; \*: p = 0,0051 vs. kontroll)

### 5.3.3.2. Vörösvérsejt aggregatio

A Myrenne aggregometer alapján a HC aggregációs index értékei minden mérési módban emelkedtek a kontroll csoporthoz képest. Ez az emelkedés szignifikáns volt mind stasis (M 5s:  $p < 0,001$ , M 10s:  $p < 0,001$ ) mind alacsony nyírófeszültség ( $3 \text{ s}^{-1}$ , M1 10s  $p = 0,0251$ ) mellett (18. ábra).



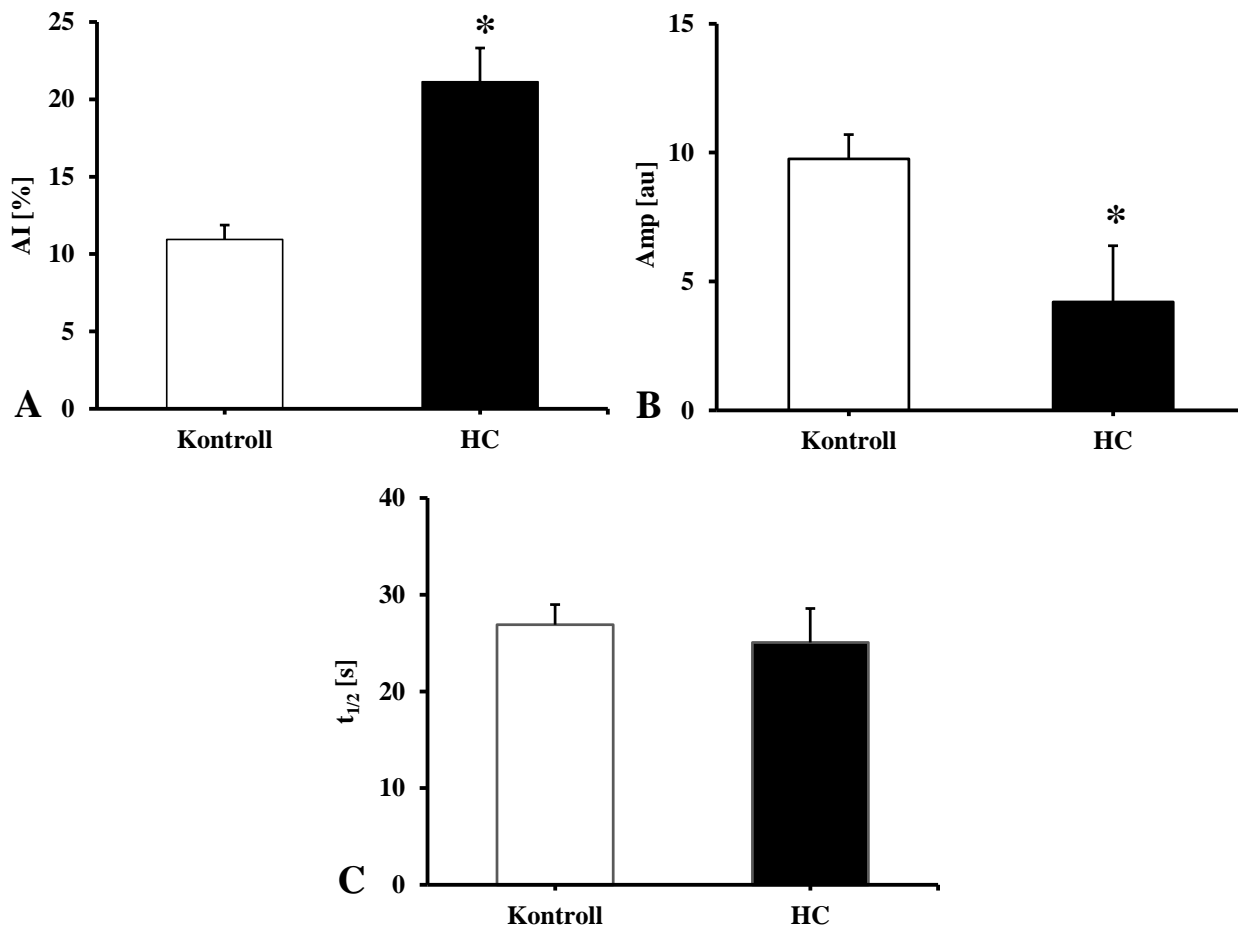
**18. ábra**

Fénytranszmissziós index értékek. A. M 5 sec, B. M 10 sec,

C. M1 5 sec, D. M1 10 sec [au].

(átlag  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. kontroll)

A LoRRca által mért aggregációs indexek alapján elmondhatjuk, hogy az aggregációs index (AI [%]) a HC csoportban a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb ( $p = 0,0003$ ), míg az amplitúdó (Amp [au]) szignifikánsan alacsonyabb ( $p < 0,0001$ ). A  $t_{1/2}$  [s] érték – amely a vörösvérsejt aggregatio kinetikáját írja le – nem mutatott jelentős eltérést a két csoport között (19. ábra).



**19. ábra**

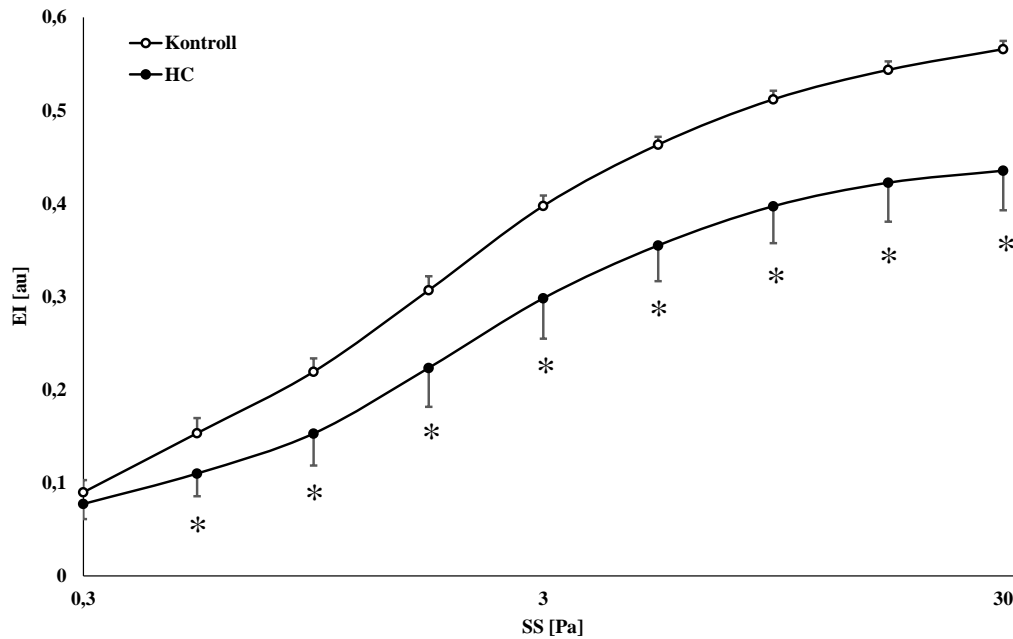
Syllectometriás eredmények. A. aggregációs index (AI [%]). B. amplitúdó (Amp [au]).

C. a maximális amplitúdó félidejéhez tartozó érték  $t_{1/2}$  [s].

(átlag  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs kontroll)

### 5.3.3.3. Vörösvérsejt deformabilitás

Az elongációs index – nyírófeszültség (EI-SS) görbék alapján a HC csoport szignifikánsan alacsonyabb deformálhatóságot mutatott a kontrollhoz képest (20. ábra).



**20. ábra**

Vörösvérsejt deformabilitás görbék. (átlag  $\pm$  SEM;  $p < 0,05$  vs. kontroll)

Az egyedi EI-SS görbékből számított paraméterek hasonló különbségeket mutatnak (XI. táblázat). Az  $EI_{max}$  értékek szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoportban a HC-hoz képest. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért EI adatok alacsonyabbak voltak a HC csoportban. Az  $SS_{1/2}$  értékek magasabbak, míg az  $EI_{max}/SS_{1/2}$  arány szignifikánsan alacsonyabb volt a HC csoportban a kontrollal összevetve.

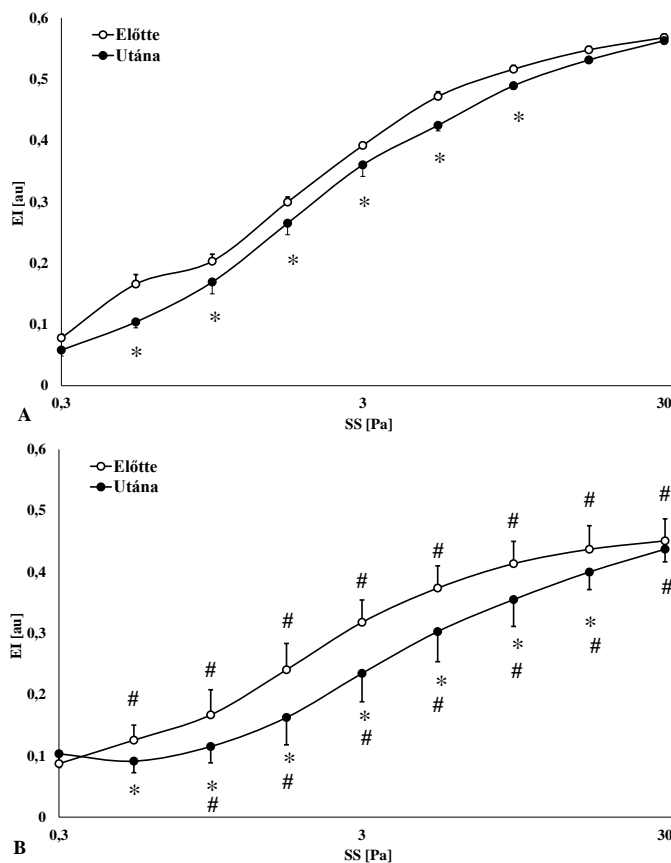
**XI. táblázat** A vörösvérsejt deformabilitás görbékből származtatott értékek.

Paraméter	Kontroll	HC	<i>p</i> -érték vs. Kontroll
EI 3Pa-nál	0,591±0,009	0,448±0,051	<0,0001
EI <sub>max</sub>	0,397± 0,011	0,298±0,043	<0,0001
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	1,544±0,172	2,125±0,633	0,0272
EI <sub>max</sub> /SS <sub>1/2</sub> [Pa <sup>-1</sup> ]	0,387±0,044	0,228±0,069	0,0007

(átlag ± SEM)

#### 5.3.3.4. Vörösvérsejt membránstabilitás (mechanikai stabilitás)

A vörösvérsejt membránstabilitás méréseknél alkalmazott 300 másodpercen keresztül tartó, 100 Pa-os mechanikai stressz előtt és után végzett deformabilitás mérések görbéi és eredményei jelentős különbségeket mutatnak a két csoport között (21. ábra).



**21. ábra**

Vörösvérsejt membránstabilitási görbék. A: kontroll csoport, B: HC csoport. (átlag ± SEM; \*: *p* < 0,05 vs. mechanikai stressz előtt; #: *p* < 0,05 vs. kontroll)

A HC csoport, már az alkalmazott mechanikai stressz előtt is jelentősen alacsonyabb deformabilitás görbét mutatott a kontroll csoporthoz képest és ez a tendencia a mechanikai stressz után is megmaradt a HC csoportnál. Az előtte-utána görbék közötti különbségek is sokkal nagyobbak voltak a HC csoportban, ami az erythrocyták rosszabb stressztűrő képességét jelezte.

A 21. ábrán látható görbékből számolt mérési adatok (XII. táblázat) azt mutatták, hogy a hypercholesterinaemiás csoport már az alkalmazott stressz előtt szignifikánsan alacsonyabb EI értékek mellett, alacsonyabb  $EI_{max}$  értékeket, de magasabb  $SS_{1/2}$  eredményeket mutat a kontrollhoz képest. Ezek az értékbeli különbségek a stressz után is megmaradtak, a HC csoport  $SS_{1/2}$  adatai esetében még jelentősebbé váltak.

**XII. táblázat** Vörösvérsejt membránstabilitás mérések összehasonlító adatai.

Paraméter	Teszt	Kontroll	HC	<i>p</i> -érték vs. Kontroll, vagy vs. előtte (* Kontroll, # előtte)
EI 3Pa-nál	előtte (B)	0,392 ± 0,002	0,318 ± 0,015*	0,002
	utána (A)	0,360 ± 0,008+	0,235 ± 0,019 *#	+0,002; *0,0015; #0,006
	arány (A/B)	0,919 ± 0,019	0,734 ± 0,038 *	<0,0001
$EI_{max}$	előtte (B)	0,592 ± 0,003	0,461 ± 0,017 *	<0,0001
	utána (A)	0,595 ± 0,004	0,458 ± 0,011 *	<0,0001
	arány (A/B)	1,005 ± 0,007	0,999 ± 0,033	ns
$SS_{1/2}$ [Pa]	előtte (B)	1,690 ± 0,081	1,977 ± 0,227	ns
	utána (A)	1,960 ± 0,149	4,540 ± 0,875 *#	*0,009; #0,018
	arány (A/B)	1,169 ± 0,089	2,228 ± 0,280*	0,001
$EI_{max}/SS_{1/2}$ [Pa <sup>-1</sup> ]	előtte (B)	0,355 ± 0,021	0,249 ± 0,028*	0,012
	utána (A)	0,311 ± 0,019	0,124 ± 0,025 *#	*0,0318; #0,002
	arány (A/B)	0,883 ± 0,062	0,484 ± 0,062 *	<0,0001

(átlag ± SEM)

## 6. MEGBESZÉLÉS

### 6.1. Vörösvérsejt membránstabilitási teszt adatértelmezési módszereinek összehasonlító vizsgálatai

A vörösvérsejt deformabilitásra és aggregációra ható tényezők közé soroljuk a vörösvérsejteket érő mechanikai traumát, a sav-bázis értékek változását, a szabadgyökös reakciókat, a patofiziológias folyamatok során létrejövő metabolikus változásokat, az ischaemia-reperfusio és a sepsis hatására (Baskurt 2007, Kameneva és Antaki 2007, Németh és mtsai 2012, Németh és mtsai 2014). A vörösvérsejteket érő mechanikai trauma mértéke nagymértékben függ a stressz erősségétől és időtartalmától (Kameneva és Antaki 2007). A vörösvérsejt mechanikai stabilitás mérése hasznos vizsgálati módszer a kutatásban és a diagnosztikában, ennek ellenére az adatok elemzésével és interpretálásával kapcsolatban kevés cikk található az irodalomban.

Szluha és munkatársai (2014) kutatásukban, egér modellen vizsgálták az alacsony dózisu egyszeri, teljes testet érő proton-besugárzás microrheologiai hatásait. Tanulmányukban a szerzők a teljes EI-SS görbékét mutatták be, és adott nyírófeszültség melletti EI értékeket, valamint az  $EI_{max}$  és  $SS_{1/2}$  adatokat hasonlították össze.

Tóth és munkatársai (2014) állatmodellen végzett kísérleteik alapján tanulmányukban rámutattak arra, hogy a kisebb méretű graftok elégtelensége a vörösvérsejtek deformabilitás és membránstabilitás értékeinek változásában is láthatóak voltak. Leírták, hogy a mechanikai stressz előtti és utáni EI-SS görbék között kisebb volt a különbség a graft csoportban. A vörösvérsejtek mechanikai stabilitásbeli változások mellett, ezeket kísérő haematologiai és haemostaseologiai változásokat is találtak. A szerzők a mechanikai stressz előtti és utáni EI-SS

görbékét hasonlították össze, kétféle mechanikai stressz-nyírási időtartalom kombinációt alkalmazva (60 Pa 300s és 100 Pa 300s) (Tóth és mtsai 2014).

A haemorheologiai paraméterek, mint a teljes vér és a plazma viszkozitás, vörösvérsejt aggregatio, deformabilitás és ozmotikus gradiens deformabilitás (osmoscan) a különböző fajok és nemek között is mutatnak különbségeket (Németh és mtsai 2009, 2010, 2016, Windberger és Baskurt 2007). Megállapították továbbá azt, hogy a vörösvérsejt membránstabilitás az ember és egyéb fajok között eltérő, amely eltérés valószínűleg nyírófeszült és ozmolaritás függő (Németh és mtsai 2016). Ezekben a kutatásokban a szerzők, mélyebbre menő adatelemzési és összehasonlítási módszereket alkalmaztak: az EI értékek mechanikai stressz előtti és utáni arányait is kiszámolták, illetve az  $EI_{\max}/SS_{1/2}$  értékek relatív változásait is összehasonlították a teljes EI-SS görbék vonatkozásában (Németh és mtsai 2016).

A szakirodalomban kevés adat található a mechanikai nyírási fázisról, annak ellenére, hogy ennek elemzése értékes adatokat nyújthat a sejteket érő mechanikai és dinamikai változásokról. Baskurt és Meiselman (2013c) kutatásában azt találta, hogy a nyírási fázis elején, az EI értékek emelkedést mutatnak. Ennek oka valószínűleg a nyírófeszültség hatására a sejtekből történő nitrogén-monoxid (Meram és mtsai 2013) vagy ATP felszabadulás (Wan és mtsai 2008) lehet.

A Tanszékünkön folyó kutatási és laboratóriumi diagnosztikai mérések alatt számos „viselkedésformát” tapasztaltunk a mechanikai stressz fázis alatt: (1) alacsony, majdnem lineárisan csökkenő értékek a nyírási fázisban; (2) kezdeti emelkedés, majd csökkenés az EI értékekben; (3) egy stabil fázis után bekövetkező hirtelen csökkenés; (4) bizonyos esetekben semmilyen tendenciózus változást nem találtunk az értékekben. Ezen tapasztalatok alapján úgy gondoljuk, hogy célszerű nem csak a mechanikai stressz előtti és utáni görbékét összehasonlítani

(13. ábra, III. és IV. táblázat), hanem érdemes figyelni és értékelni a vörösvérsejtek mechanikai stressz alatti viselkedését is (14. ábra).

## **6.2. A hőmérséklet emelés hatása a vörösvérsejtek membránstabilitására**

A hyperthermiás vagy lázas állapot sokféle változást képes okozni *in vivo*. Ezek a patofiziológiás elváltozások függenek a megemelkedett testhőmérséklettől, így más és más eltérések jelentkezhetnek például hóguta, termoregulációs betegségek vagy láz során (Gomez és mtsai 2014, Cheshire és mtsai 2016, Hasday és Singh 2000). Hyperthermiás állapot esetén az érrendszerben bekövetkező változások viszonylag gyorsan jelentkezhetnek. Szélsőséges esetben a szív, a tüdő, a máj és a vese, akár visszafordíthatatlan morfológiai változásokat szenvedhetnek el, ami az adott szerv leállításához vezethet (Larcán és mtsai 1978, Karnaukh és mtsai 2004). Az eddigi adatok alapján ilyen esetekben, úgy tűnik, legkevésbé érintett szerv a lép lehet. A myocardium sejtjeiben a simafelszínű endoplasmaticus reticulum kitágul, az interfascicularis térben ödéma jön létre (Vlad és mtsai 2013), ami a kontraktilitás romlásához vezet (Lapsha és Gurin 2006).

A vörösvérsejtek microrheológiai paraméterei jelentős változásokon esnek át a hőmérséklet növekedésével (Ham és Shen 1948, Rakow és Hochmuth 1975, Singh és Stoltz 2002). Normál körülmények között a vörösvérsejteket nagymértékű deformálhatóság jellemzi, ami láz vagy lázas állapot esetén nagymértékű romlást mutat (Evans és Hochmuth 1978, Chasis és Shohet 1987).

Jelen kutatás alapfelvetése az volt, hogy a hőkezelés vagy különböző hőmérsékleteken történő mérések hatására a vörösvérsejtek deformabilitásában változások jöhetnek létre. Ezek a változások különböző fajok közötti (VII. táblázat) eltéréseket mutathatnak. A kapott

eredmények és azok elemzése a következőket támasztották alá: (1) a PBS-vvs szuszpenziókban (10% Htc) a rövid ideig tartó hőkezelés (37°C, 40°C és 43°C) tendenciózusan romló vörösvérsejt deformabilitást okozott (16. ábra); (2) ezek a változások a fajok között eltérő mértékűek voltak; (3) a vörösvérsejtek sokkal érzékenyebben reagáltak a hőmérséklet változásra a szuszpenziókban, a teljes vér-PVP keverékekhez képest; (4) a folyamatosan emelkedő hőmérsékleteken történt mérések fordított arányban befolyásolták a deformabilitást és ezek a vizsgált fajok között különböző mértékű változásokat okoztak; (5) a membránstabilitás teszt nem egyöntetű eredményt hozott, egyes a hőmérséklet növekedésével kapcsolatos méréseknél.

A fajok között levő vörösvérsejt deformabilitás eltérés egy komplex és még nem teljesen tisztázott témakör, mivel a sejtmorfológia, membránösszetétel, viszkoelaszticitás, sejttérfogat és a sejt felület-térfogat arány szélsőséges határok között mozog a különböző fajokban (Windberger és Baskurt 2007, Németh és mtsai 2016, 2018).

A tárolás és a mérések hőmérséklete szignifikánsan befolyásolja a vörösvérsejt aggregációt és deformabilitás értékeket (Singh és Stoltz 2002, Başkurt és Mat 2000, Lecklin és mtsai 1996, Uyuklu és mtsai 2009). Baskurt és Mat, patkány sepsis modellen elvégzett ektacytometriás mérések során azt tapasztalták, hogy a 37°C-on elvégzett tesztek szignifikáns különbségeket mutattak a kontrollhoz képest, mely különbségek alacsonyabb hőmérsékleteken nem voltak kimutathatók (Baskurt és Mat 2000). Singh és Stoltz humán vérmintákban kimutatták, hogy az 5°C és a 37°C elvégzett vörösvérsejt aggregatio és deformabilitás mérések eredményei szignifikánsan eltérnek (Singh és Stoltz 2002). Ennél magasabb hőmérsékleteken még nem történetek hasonló vizsgálatok.

A hőmérséklet hatással van a vörösvérsejtek fehérjéire és a sejtmembránjára is (Artmann és mtsai 1998, Gershfeld és Murayama 1988). Gershfeld és munkatársai leírták, hogy egy 30 órán

keresztül tartó, különböző hőmérsékletű inkubálási periódus alatt, a humán vörösvérsejtek haemolysise hőmérséklet függő és ez a folyamat következménye a sejtmembrán úgynevezett „unilamellar-multibilayer” transzformációjának. Ez azt jelenti, hogy a sejtmembrán stabil unilamellar állapotban van 37°C-on, viszont a hőmérséklet emelkedésével egy ún. multibilayer szerkezetté transzformálódik, amivel olyan sejtfelszíni régiók válnak elérhetővé a külső környezet számára, amelyek lipidszegények és ezért a sejt elveszíti cytosolt és haemolysis jön létre.

Ismeretes, hogy a nitrogén-monoxid képes javítani a vörösvérsejt deformabilitást, (Simmonds és mtsai 2014). A vörösvérsejtek képesek a nitrogén-monoxid termelésére, aminek egyik fő oka az érpályában őket érő nyírófeszültség (Yalcin és mtsai 2008). Kutatásunk során azt találtuk, hogy a PBS-vvs szuszpenziókban, a mechanikai stressz utáni mérésekben 37°C-on javultak az EI értékek a humán minták esetében, míg hasonló tendencia csak 40°C és 43°C-on volt megfigyelhető a patkányból és kutyából származó mintákban (16. ábra).

Fiziológias körülmények között a vörösvérsejtek nitrogén-monoxid termelése és az ezzel járó deformabilitás javulás az általunk vizsgálnál (100 Pa) alacsonyabb nyírófeszültség értékeknél is észlelhető volt (Simmonds és mtsai 2014, Yalcin és mtsai 2008) tekintve, hogy az érpályában ritka a 10 Pa feletti nyírófeszültség értéke (Németh és mtsai 2016, Lipowsky 2005, Simmonds és mtsai 2014). Feltételezhető, hogy a vvs-PBS szuszpenziókban levő alacsony (10%) haematocrit érték mellett, a nyíróerők eloszlása és átvitele az erythrocyták között eltér a normális vér hasonló tulajdonságaitól. Továbbá ismeretes, hogy a nitrogén-monoxid termelése növekszik a hőmérséklet növekedésével az élő szervezet szerveiben és szöveteiben (Bouchard és Yamasaki 2008, Yarullina és mtsai 2010, Bernard és mtsai 1994, Gerstberger 1999, Hakim és mtsai 2014).

Kutatásunk legfőbb limitációs tényezője lehet, hogy a kezeléseket és a méréseket *in vitro* végeztük, így nem tudjuk közvetlenül rávetíteni *in vivo* kutatásra az eredményeket. A hőstressz a hőkezelt PBS-vvs szuszpenziók esetén rövid ideig tartott, a teljes vérminták esetén pedig a melegítést csak a mérések időtartama alatt alkalmaztuk. Ezzel szemben, a maghőmérséklet megemelkedése, például láz esetén, akár napokig is eltarthat, ami a módon összetett válaszreakciókat vált ki. A melegített teljes vérmintákat egy PVP-PBS oldatba kevertük el, hogy a mérések kivitelezhetőek legyenek, ez esetünkben további eltérést jelent a fiziológias körülményektől.

### **6.3. Koleszterindús diéta haemorheológiai hatásai**

A hypercholesterinaemiás nyúl modell a humán atherosclerosis és lipidmetabolizmussal kapcsolatos kóros állapotok, betegségek kutatásának széleskörben elfogadott modellje (Lee és mtsai 2017, Prikosz és mtsai 2018). A metabolikus betegségekkel foglalkozó szakirodalomban ismeretes, hogy a nyúl érzékenyen reagál a táplálékból felvett többlet koleszterinre, ami gyorsan kialakuló és súlyos hypercholesterinaemiához, majd atherosclerosisához vezet. A máj által felvett koleszterin mennyiségétől függően a máj LDL receptorainak száma emberben és a nyúlban is lecsökkenhet. A nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (VLDL) receptorok, amelyek nagymértékben részt vesznek a habos sejtek kialakulásában, nyúlban és emberben is nagymértékben expresszálódnak a macrophagokban (Fan és mtsai 2014). A nyulak anatómiai jellegzetességei, így a rágcsálókhoz mérten nagyobb méretű artériák, alkalmasabbá teszik őket, klinikai módszerekkel történő vizsgálatokra, például mágneses rezonanciás képalkotásra (MRI) és echocardiographiás mérésekre, morfológiai (plakkok összetétele és szerkezete), illetve a

funkcionális (szisztolés és diasztolés zavarok) változások kimutatására (Lee és mtsai 2017, Priksz és mtsai 2018).

Annak ellenére, hogy a nyúl modell kiválóan alkalmas metabolikus kutatásokra, mint minden kísérletes állatmodellnek megvannak a maga limitációi. Egyik ilyen korlátozó tényező, hogy a laboratóriumi körülmények között standard tápon tartott nyulaknál nem alakul ki spontán atherosclerosis, a tápok alacsony koleszterin tartalma miatt. A komolyabb patológiás elváltozásokat, mint a szívfunkciók romlása, atherosclerotikus plakkok létrejötte, infarktus és magasabb mortalitás, csak a hosszú ideig és megnövelt koleszterin tartalmú diétán tartott nyulaknál fordul elő (Kertész és mtsai 2013). Ha a nyulakat magas koleszterin tartalmú táppal etetjük, akkor aorta károsodás is kialakulhat, először az aorta íven, majd a mellkasi aorta szakaszon; az emberre jellemző a hasi aorta érintettség, csak súlyos esetekben fordul elő. Bizonyos esetekben a koszorúereket érintő érlemezésedés is megfigyelhető nyulaknál.

A nyúl modell további jellegzetessége, hogy az humán atherosclerosisban elforduló károsodások, mint a plakk ruptura, fekélyesedés vagy aorta aneurysma nem, vagy csak ritkán mutatható ki. A nyulaknál kialakuló plakkok főleg habos sejtekből állnak, amelyekben zsírlerakódások vannak és magas a macrophag tartalma (Fan és mtsai 2014, Lee és mtsai 2017). Az előrehaladott állapotban levő károsodások hosszabb ideig tartó koleszterin etetés után alakulhatnak ki, a máj alacsony lipáz aktivitásának következtében kialakuló májkárosodás miatt (Lee és mtsai 2017).

A kutatásunk során használt nyúl modell jelentős morfológiai, funkcionális és szerológiai elváltozásokat mutatott. A bal pitvar megvastagodott, a bal kamra tömege és relatív vastagsága megnövekedett. A szövettani elemzés során az aortában habos atherosclerotikus plakkok kialakulását, a myocardialis szövetben interstitialis fibrosist állapítottunk meg. Diasztolés

diszfunkció jelei is mutatkoztak az állatokban. A szérum lipid paraméterek, az atherogen index és az ApoB/ApoA aránya szignifikánsan magasabb volt az atherogen csoportban (Priksz és mtsai 2018).

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az atherogen diéta számos haematologiai paramétert befolyásolt kutatásunk 16 hetes időtartama alatt (X. táblázat). Mind a vörösvérsejt szám, mind a haemoglobin szint csökkent a kezelt kísérleti csoportban. Hasonló változásokat írtak le nyulaknál magas koleszterin- és LDL szint esetén (Abdelhalim és Moussa 2010). Szakirodalmi adatok szerint, már 6 hetes atherogen kezelés hatására is jelentkezhet alacsony vörösvérsejt szám, valamint jelentős változások tapasztalhatók az MCV, MCH és MCHC értékekben (Króliczewska és mtsai 2011, Karbiner és mtsai 2013).

Kísérletünk során, a HC csoportban megjelenő szignifikánsan megemelkedett MCV, változatlan MCH és a szignifikánsan csökkent MCHC értékek hypochrom macrocyter regeneratív anaemia kialakulására utalhat (X. táblázat). Az anaemia létrejötte okozhat hypoxiás állapotot a szervezetben a csökkent haemoglobin szint miatt, ami kihat több hemodinamikai paraméterre is. Az akut anaemia okozta klinikai és haemodinamikai paraméterekben történt változások visszafordíthatók, ellenben a krónikus anaemiás állapot progresszív szívmegegyobbodáshoz és bal kamrai hypertrophiához vezethet (Mozos 2015, Metivier és mtsai 2000, Felker és mtsai 2004). Hasonló patofiziológiás elváltozásokat a mi kísérletünkben is észleltünk (Priksz és mtsai 2018). A megnövekedett MCV utalhat az atheroscleroticus állapot súlyosságára és a vitaminhiányhoz kötött atherosclerosis jelenlétére is (Mueller és mtsai 2002).

A hypercholesterinaemiás állapot stimulálja a thrombocytá szám növekedését megacaryopoesisen és myelopoesisen keresztül, valamint növeli a thrombocytá aktivációt (Wang, Tall 2016, Tomaiuolo 2014, Huo, Ley 2004, Barale és mtsai 2020). Továbbá a

megnövekedett koleszterinszint fokozza a thrombocyta hyperaggregabilitás mértékét is. Az aktivált thrombocyták képesek aggregátumokat létrehozni a neutrophil granulocytákkal és monocytákkal is. Az így létrejövő interakció a vérlemezkék és a leukocyták között fontos szerepet játszik a gyulladáshoz vezető citokinek termelésében, a leukotriének és reaktív oxigén gyökök (ROS) létrejöttében (Wang, Tall 2016). A reaktív oxigén gyökök elősegíthetik gyulladáshoz vezető mediátorok termelését, mint a C-reaktív protein (CRP), ami ezt követően aktiválhatja a prothrombotikus faktorokat és a thrombocytákat (Barale és mtsai 2020, Zhang és mtsai 2012). Az általunk mért megnövekedett fehérvérsejt és thrombocyta szám, valamint CRP szint az atherosclerosis gyulladáshoz vezető jellegét mutatja.

A magas koleszterinszint közvetlen hatással van a véráramlásra; úgy, mint az atheroscleroticus plakkok létrejötte és növekedése az artériákban, a koszorúerek lumenjének csökkenése, az endothelium gyulladáshoz vezető állapota, és csökkent mértékű endothelium-függő vasorelaxatio (Krüger-Genge és mtsai 2019). Ezek együttesen rontják a szívizom keringését és a szöveti perfúziót (Buchwalow és mtsai 2008). A hypercholesterinaemia indirekt módon is képes befolyásolni a rheológiai faktorokat: a magas koleszterinszint növeli a teljes vér viszkozitást (17. ábra) a fehérvérsejt- és thrombocyta szám megemelkedésével (Tomaiuolo 2014, Ho 2004).

A vörösvérsejt aggregatio esetében jelentős különbségeket mutattunk ki a kísérleti csoportok között, mind a fénytranszmissziós (18. ábra), mind a syllectometriás mérési módszer segítségével (19. ábra). A Myrenne aggregometerrel (fénytranszmissziós mérési eszköz) kimutattuk, hogy a HC csoport aggregációs indexei szignifikánsan emelkedtek a kontrollhoz képest minden mérési módban (M, M1) (18. ábra). A LoRRca (syllectometriás mérési módszer) a HC csoport megnövekedett aggregációs index értékei mellett, csökkent aggregációs amplitúdót

tapasztaltunk, míg az aggregatio idődinamikájában nem volt számottevő változás (19. ábra). A humán klinikai tanulmányok során végzett mérések hasonló aggregációs index és amplitúdó értékeket mutattak ki, azonos mérési módszerekkel, túlsúlyos, diabetezes és hypercholesterinaemiás betegeknél (Wiewiora és mtsai 2007, Krüger-Genge és mtsai 2019). Továbbá megállapították, a teljes koleszterinszint és a vörösvérsejt aggregációs indexek (AI) között pozitív, míg az aggregatio-félideje ( $t_{1/2}$ ) negatív korreláció áll fenn.

Az alacsony sebesség-gradiensnél megnövekedett vérviszkozitás fő oka a vörösvérsejt aggregatio (Rampling 2003, Baskurt és mtsai 2004, Baskurt és mtsai 2009, Baskurt és mtsai 2012). A plakkok által beszűkített lumen okozta véráramlás változás növelheti a sejtek adhézióját és az áramlási ellenállást (Geddes és mtsai 2010, Lipowsky 2005, Baskurt 2007). Az alacsony szöveti haematocrit szint, alacsony lokális viszkozitást okozhat az erek marginális zónájában, ami csökkenti a súrlódási ellenállást az endotheliummal (Muravyov és mtsai 2011, Munn, Dupin 2008, Nash és mtsai 2008, Fedosov, Gompper 2014). Az axiális migráció (a deformálható vörösvérsejtek az érfal közelében lévő nyíróerők miatt a középpáramba vándorolnak) elősegíti a fehérvérsejtek és thrombocytáknál leírt marginalizáció jelenségét. Munn és Dupin (2008) megállapította, hogy a vörösvérsejtek aggregációja során létrejövő rouleaux formálódás jelensége hatékonyabb formája a fehérvérsejtek érfalhoz való sodródásának, mintha ezt a jelenséget lazán összerendeződött sejtek okoznák. A fehérvérsejtek marginalizációja függ az áramlási tulajdonságoktól, az erythrocyták és aggregátumaik axiális migrációjától, a lokális haematocrit értéktől, és a vörösvérsejt deformabilitástól (Nash és mtsai 2008, Fedosov, Gompper 2014).

Számos fiziológias és patofiziológias tényező hat az erythrocyták deformálhatóságára (Baskurt 2007, Pretini és mtsai 2019, Németh és mtsai 2016). A vörösvérsejtek

membránstabilitását az LDL-koleszterin szint direkt módon is befolyásolja (Holm és mtsai 2002). Az erythrocyták membránjában felhalmozódó túlzott mennyiségű koleszterin növeli a sejtek rigiditását és csökkenti a deformálhatóságukat, ez a rigiditás összefügg a relatív koleszterin/foszfolipid arány növekedésével is (Meurs és mtsai 2005). A koleszterin/foszfolipid arány változása *in vitro* befolyásolhatja a vörösvérsejtek foszfatidil-szerin mennyiségét a sejtek felszínén hypercholesterinaemiás és acanthocytosis anaemiában szenvedő betegek vérében (Zwieten és mtsai 2012). A magas zsír tartalmú étrenden tartott egerek esetében a membrán koleszterinszint és a foszfatidil-szerin externalizáció növekedett, ami elősegítette a vörösvérsejt-macrophag gyulladásos interakciókat, és növelte a macrophagok fagocitózisának mértékét is, *in vitro* körülmények között (Unruh és mtsai 2015). A vörösvérsejt deformabilitás romlását humán klinikai vizsgálatokban is kimutatták (Koter és mtsai 2004). A foszfatidil-szerin fontos triggere a macrophagoknak, és ez által az előregedő vörösvérsejtek felismerésében is szerepet játszik, továbbá az erythrocyták membránstabilitásának is fontos tényezője (Zwieten és mtsai 2012, Manno és mtsai 2002).

A rigidebb membránnal rendelkező vörösvérsejtek jobban ki vannak téve az érrendszerben létrejövő mechanikai stressznek, így könnyebben károsodnak (elsősorban a kapillárisokban, lépben) (Zwieten és mtsai 2012, Manno és mtsai 2002). A rigidebb erythrocyták kevésbé deformálódnak a nyíróerők hatására, így a magasabb viszkozitás okozta többlet erőhatás is hozzájárulhat a vörösvérsejt membránstabilitás értékek csökkenéséhez (Vayá és mtsai 2015). Kutatási eredményeink azt mutatták, hogy csökkent deformabilitás (20. ábra), rontott a membránstabilitáson (21. ábra) is a hypercholesterinaemiás csoportban. A vizsgált paraméterek jól kifejezték a deformabilitásbeli különbségeket ( $EI$ ,  $EI_{max}$ ,  $SS_{1/2}$ , és ezek aránya) és a mechanikai stabilitás (mechanikai stressz előtt és után) csökkenését (XII. táblázat). A

vörösvérsejt deformabilitás csökkenését a hypercholesterinaemiás csoportban jól mutatja az EI-SS görbék parametrizációja utána kapott  $EI_{\max}$  csökkenés,  $SS_{1/2}$  növekedés és az  $EI_{\max}/SS_{1/2}$  arány csökkenése is (XI. táblázat). A romló membránstabilitás az EI-SS görbék közötti különbségekben is megmutatkozott. A hypercholesterinaemiás csoport esetében már a mechanikai stressz előtt is alacsonyabb értékeket regisztráltunk, ami a stressz hatására még kifejezettebbé vált. Ezt a tendenciát mutatja az itt számított  $SS_{1/2}/EI_{\max}$  arány is (XII. táblázat).

## FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEGZÉSE

1. A vörösvérsejt membránstabilitásában bekövetkező változások vizsgálatának összehasonlíthatósága szempontjából az alábbi paramétereket találtuk a legmegfelelőbbnek: elongációs index-idő görbék meredeksége a mechanikai stressz periódus alatt, az elongációs index előtte/utána arány a nyíró feszültség (SS) vonatkozásában, a 3 Pa-nál mért elongációs index utána/előtte aránya, a maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ), és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték ( $SS_{1/2}$ ) és ezek aránya ( $EI_{max}/SS_{1/2}$ ) mind egészséges, mind patológiás vérminták esetén.
2. Kimutattuk, hogy már a rövid ideig tartó hőkezelés is szignifikánsan csökkenti a vörösvérsejtek deformabilitását. Leírtuk, hogy a különböző fajok vörösvérsejtjei eltérően reagálnak a különböző mértékű hőhatásokra, így a humán vérminták voltak a legérzékenyebbek, míg a kutyákból származó minták a legellenállóbbak a vizsgált hőhatásokra. Kimutattuk, hogy a hőmérséklet emelkedésének módja és a minták összetétele is befolyásolja a vörösvérsejt deformabilitás romlását.
3. A koleszterindús diéta haemorheologiai hatásainak vizsgálata során kimutattuk, hogy az atherogen diéta szignifikáns változásokat okoz: emelkedett a fehérvérsejt szám, a vörösvérsejtek átlagos térfogata és thrombocytá szám; csökkent a vörösvérsejt szám, haemoglobin és a vörösvérsejtek átlagos haemoglobin koncentrációja. A szakirodalomban először, kétféle aggregációs mérési módszerrel is bebizonyítottuk, hogy a hypercholesterinaemia jelentősen rontja az aggregatio mértékét. Megállapítottuk, hogy az atherogen táp szignifikánsan csökkenti a vörösvérsejtek deformálhatóságát. Leírtuk, hogy a vörösvérsejt membránstabilitás már az alkalmazott mechanikai stressz előtt is jelentősen alacsonyabb deformabilitás görbét mutatott a HC csoportban a kontroll csoporthoz képest és ez a tendencia a mechanikai stressz után is megmaradt.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

Mind a macro-, mind a microrheologiai paraméterek fontos szerepet játszanak a szöveti perfúzió mértékében és mechanikai stresszhez kötött endotheliális funkciók működésében. Ezeket sokféle faktor befolyásolja, többek között a metabolikus változások is. A mechanikai stabilitási teszt adatainak értelmezésére és kiértékelésére többféle megközelítést is használhatunk: (1) előre meghatározott nyírófeszültség értékekhez (pl. 3Pa, 5Pa stb.) tartozó relatív, vagy abszolút elongációs index értékek (előtte/utána) összehasonlítása, vagy az EI-SS görbék parametrizálásából kapott adatok ( $EI_{max}$ ,  $SS_{1/2}$ ,  $EI_{max}/SS_{1/2}$  aránya) nyírás előtti és utáni értékeinek összehasonlítása; (2) az EI előtte/utána – nyírófeszültség görbékre illesztett görbék milyenségét és meredekségét; (3) a nyírási periódus alatt kapott EI adatok részletes elemzése.

A vörösvérsejt deformabilitás szignifikánsan csökkent a rövid ideig tartó (10 perc) hőkezelés hatására. Az általunk alkalmazott módszer jól láthatóan kimutatta, hogy a vizsgált fajok más-más mértékben reagálnak az ilyen hatásokra. Az eredmények alapján a humán minták voltak a legérzékenyebbek a kétféle hő stresszre, amíg a kutyából származó minták mutatták a legnagyobb mértékű romlást a mért értékekben. A hő stressz jellegének (direkt melegítéssel történő hőkezelés vagy lassú, a mérések alatti melegítés) és a minták összetételének (PBS-vér szuszpenzió vagy PVP-PBS keverékben szuszpendált teljes vér) függvényében, eltérő mértékű és erősségű deformabilitás csökkenés mutatkozott a hőmérséklet emelkedésével. A melegítés hatással van a vörösvérsejt membránstabilitásra is, ami a fajok közötti eredményekben is megmutatkozott.

Kutatásunk rávilágított, hogy a hypercholesterinaemiás állapot nagymértékű változásokat képes előidézni a haematologiai, a micro- és a macrorheologiai paraméterekben. A tizenhat hetes atherogen diéta többek között nem csak a vörösvérsejtek számát, a haemoglobin tartalmát, de az erythrocyták deformabilitását és membránstabilitását is csökkentette a HC csoportban. Továbbá kétféle aggregációs mérési módszerrel is bebizonyítottuk, hogy a kezelt csoportban az aggregatio mértéke jelentősen romlott a kontroll csoporthoz képest.

## 8. SUMMARY

Both the macro- and microrheological parameters play important roles in case of tissue perfusion and to the endothelial functions during mechanical stress. They are affected by a variety of factors, including metabolic changes. Several approaches can be used to interpret and evaluate the mechanical stability test data: (1) comparison of relative or absolute elongation index values (before / after) for predetermined shear stress values (e.g., 3Pa, 5Pa, etc.), or EI-SS curves comparison of the values of the data obtained from the parameterization ( $EI_{max}$ ,  $SS_{1/2}$ ,  $EI_{max} / SS_{1/2}$  ratio) before and after shearing; (2) the nature and slope of the curves fitted to the EI before / after shear stress curves; (3) a detailed analysis of EI data obtained during the shear period.

The deformability of the erythrocytes was significantly decreased by the 10 minutes of high-temperature treatment. The method we used has clearly shown that different species respond differently to such effects. Based on the results, the human samples were the most sensitive to the two types of heat stress, while the samples from the dog showed the greatest deterioration in the measured values. Depending on the nature of the heat stress (direct heating or slow heating during the measurements) and the content of the samples (PBS-blood suspension or whole blood suspended in PVP-PBS), the degree of deformability decreased with varying magnitude and strength. Heating also affects red blood cell membrane stability, which was also reflected in the cross-species results.

Our research has revealed that hypercholesterolemia can cause changes in hematological, micro-, and macrorheological parameters. The sixteen-week atherogenic diet reduced not only red blood cell counts, hemoglobin content, but also erythrocyte deformability and membrane stability in the HC group, among others. Furthermore, we demonstrated by two different aggregation measurement methods that the degree of aggregation in the treated group deteriorated significantly compared to the Control group.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

### 9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Abdelhalim, M. A. Moussa, S. A. (2010). Biochemical changes of hemoglobin and osmotic fragility of red blood cells in high fat diet rabbits. *Pak. J. Biol. Sci.*, 13(2), 73-77.
2. Abdelhalim, M., Suliman Al-Ayed, M., Moussa, S., Al-Mohy, Y. (2016). The changes in serum and whole blood rheological properties of rabbits during the progression of atherosclerosis *Pak. J. Pharm. Sci.*, 29(3),1053-1057.
3. Artmann, G. M., Kelemen, C., Porst, D., Büldt, G., Chien, S. (1998). Temperature transitions of protein properties in human red blood cells. *Biophys. J.*, 75(6), 3179-3183.
4. Baker, I. A., Pickering, J., Elwood, P. C., Bayer, A., Ebrahim, S. (2002). Fibrinogen, viscosity and white blood cell count predict myocardial, but not cerebral infarction: Evidence from the caerphilly and speedwell cohort. *J. Thromb. Haemost.*, 87(3), 421-425.
5. Barale, C., Cavalot, F., Frascaroli, C., Bonomo, K., Morotti, A., Guerrasio, A., Russo, I. (2020). Association between high on-aspirin platelet reactivity and reduced superoxide dismutase activity in patients affected by type 2 diabetes mellitus or primary hypercholesterolemia. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(14), 4983.
6. Baskurt, O. K., Neu, B., Meiselman, H. J. (2012). Determinants of red blood cell aggregation. In Baskurt O.K., Neu B., Meiselman H.J. (Ed.), *Red blood cell aggregation*, 1st Edition, pp. 9-29.CRC Press.Boca Raton.
7. Baskurt, O.K. (2007). Mechanisms of blood rheology alterations. In Baskurt, O. K., Hardeman, M. R., Rampling M. W., Meiselman, H. J. (Eds.), *Handbook of hemorheology and hemodynamics*, IOS Press, Amsterdam. 170-190.
8. Baskurt, O. K. (2012). Red blood cell mechanical stability. *Eng. J.*, 04, 8-10.
9. Baskurt, O. K., Boynard, M., Cokelet, G. C., Connes, P., Cooke, B. M., Forconi, S., Liao, F., Hardeman, M. R., Jung, F., Meiselman, H. J., Nash, G., Nemeth, N., Neu, B., Sandhagen, B., Shin, S., Thurston, G.,Wautier J. L.. (2009). New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 42(2), 75-97.
10. Baskurt, O. K., Hardeman, M. R., Uyuklu, M., Ulker, P., Cengiz, M., Nemeth, N., Shin, S., Alexy, T., Meiselman, H. J.(2009a). Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. *Biorheology*, 46(3), 251-264.
11. Baskurt, O. K., Hardeman, M. R., Uyuklu, M., Ulker, P., Cengiz, M., Nemeth, N., Shin, S., Alexy, T., Meiselman, H. J. (2009b). Parameterization of red blood cell elongation index--shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 69(7), 777-788.
12. Baskurt, O. K., Mat, F. (2000). Importance of measurement temperature in detecting the alterations of red blood cell aggregation and deformability studied by ektacytometry: A study on experimental sepsis in rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 23(1), 43-49.
13. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. (2003). Blood rheology and hemodynamics. *Seminars in Thromb. Haemost.*, 29(5), 435-450.
14. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. (2013a). Comparative hemorheology. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 53(1-2), 61-70.

15. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. (2013b). Data reduction methods for ektacytometry in clinical hemorheology. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 54(1), 99-107.
16. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. (2013c). Red blood cell mechanical stability test. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 55(1), 55-62.
17. Baskurt, O. K., Yalcin, O., Ozdem, S., Armstrong, J. K., Meiselman, H. J. (2004). Modulation of endothelial nitric oxide synthase expression by red blood cell aggregation. *Am. J. Physiol. Heart Circ.*, 286(1), H222-9.
18. Baskurt, O. K., Boynard, M, Cokelet, G.C., Connes, P., Cooke, B.M., Forconi, S., Liao, F., Hardeman, M.R., Jung, F., Meiselman, H.J., Nash, G., Nemeth, N., Neu, B., Sandhagen, B., Shin S., Thurston G., Wautier J.L. (2009c) International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*;42(2):75-97.
19. Bernard, C., Merval, R., Esposito, B., Tedgui, A. (1994). Elevated temperature accelerates and amplifies the induction of nitric oxide synthesis in rat macrophages. *Eur. J. Pharmacol.*, 270(1), 115-118.
20. Blatteis, C. M. (2007). The onset of fever: New insights into its mechanism. *Prog. Brain Res.*, 162, 3-14.
20. Bodnár, T., Sequeira A., Prosi M. (2011) On the shear-thinning and viscoelastic effects of blood flow under various flow rates. *Appl. Math. Comput.*, 217(11):5055-5067.
21. Bouchard, J. N., Yamasaki, H. (2008). Heat stress stimulates nitric oxide production in symbiodinium microadriaticum: A possible linkage between nitric oxide and the coral bleaching phenomenon. *Plant Cell Physiol.*, 49(4), 641-652.
22. Bor-Kucukatay M, Wenby RB, Meiselman HJ, Baskurt OK. (2003) Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 284(5):H1577-84.
23. Buchwalow, I. B., Cacanyiova, S., Neumann, J., Samoilova, V. E., Boecker, W., Kristek, F. (2008). The role of arterial smooth muscle in vasorelaxation. *Biochemical and Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 377(2), 504-507.
24. Cicha I., Suzuki Y., Tateishi N., Maeda N. (2003) Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation: PH dependency and cell morphology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 284(6):H2335-42.
25. Chasis, J. A., Shohet, S. B. (1987). Red cell biochemical anatomy and membrane properties. *Annu. Rev. Physiol.*, 49, 237-248.
26. Cheshire, W. P., Jr. (2016). Thermoregulatory disorders and illness related to heat and cold stress. *Auton Neurosci*, 196, 91-104.
27. Conceição, G., Heinonen, I., Lourenço, A. P., Duncker, D. J., Falcão-Pires, I. (2016). Animal models of heart failure with preserved ejection fraction. *Neth Heart J*, 24(4), 275-286.
28. Connes P, Tripette J, Mukisi-Mukaza M, Baskurt OK, Toth K, Meiselman HJ, Hue O, Antoine-Jonville S. (2009) Relationships between hemodynamic, hemorheological and metabolic responses during exercise. *Biorheology*, 46(2),133-143.
29. Copley, A. L., Seaman, G. V. F. (1981). The meaning of the terms rheology, biorheology and hemorheology. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 1, 117-119.
30. de Oliveira, S., Saldanha, C. (2010). An overview about erythrocyte membrane. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 44(1), 63-74.
31. Cowan, A.Q., Cho, D.J. Rosenson, R.S. (2012) Importance of Blood Rheology in the Pathophysiology of Atherothrombosis. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 26, 339–348.

32. Dornas, W. C., Oliveira, T. T., Augusto, L. E., Nagem, T. J. (2010). Experimental atherosclerosis in rabbits. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 95(2), 272-278.
33. Ernst, E., Koenig, W. (1993) Hemorheology, thrombogenesis, and atherosclerosis. *Semin. Thromb. Hemost.*, 19(2), 99-103.
34. Evans, E. A., Hochmuth, R. M. (1978). Mechanochemical properties of membranes. In Felix Bronner, Arnost Kleinzeller (Eds.), *Membrane properties: Mechanical aspects, receptors, energetics and calcium-dependence of transport*, pp. 1-64 (Academic Press).
35. Fan, J., Kitajima, S., Watanabe, T., Xu, J., Zhang, J., Liu, E., Chen, E. C. (2014). Rabbit models for the study of human atherosclerosis: From pathophysiological mechanisms to translational medicine. *Pharmacol. Ther.*, 104-119.
36. Fedosov, D., Gompper, G. (2014). White blood cell margination in microcirculation. *Soft Matter*, 10, 2961-2970.
37. Felker, G. M., Adams, K. F., Jr, Gattis, W. A., O'Connor, C. M. (2004). Anemia as a risk factor and therapeutic target in heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 44(5), 959-966.
38. Geddes, J. B., Carr, R. T., Wu, F., Lao, Y., Maher, M. (2010). Blood flow in microvascular networks: A study in nonlinear biology. *Chaos*, 20(4), 045123.
39. Gershfeld, N. L., Murayama, M. (1988). Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: Temperature dependence of hemolysis. *J. Membr. Biol.*, 101(1), 67-72.
40. Gerstberger, R. (1999). Nitric oxide and body temperature control. *News in Physiological Sciences: Am J Physiol.*, 14, 30-36.
41. Gomez, C. R. (2014). Disorders of body temperature. *Handb Clin Neurol.* 2014;120,947-957.
42. Hakim, T. S., Pedoto, A., Nandi, J., Bosco, G., Rubini, A., Mangar, D., Paoli, A., Camporesi, E. M. (2014). Hypothermia attenuates NO production in anesthetized rats with endotoxemia. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 387(7), 659-665.
43. Ham, T. H., Shen, S. C. (1948). Studies on the destruction of red blood cells; thermal injury; action of heat in causing increased spheroidicity, osmotic and mechanical fragilities and hemolysis of erythrocytes; observations on the mechanisms of destruction of such erythrocytes in dogs and in a patient with a fatal thermal burn. *Blood*, 3(4), 373-403.
44. Hardeman, M., Goedhart, P., Shin, S. (2007). Methods in hemorheology. In Baskurt, O.K., Hardeman, H.R., Rampling, M.W., Meiselman, H.J. (Eds.), *Handbook of hemorheology and hemodynamics*, IOS Press, Amsterdam. 242-266,
45. Hasday, J. D., és Singh, I. S. (2000). Fever and the heat shock response: Distinct, partially overlapping processes. *Cell Stress and Chaperones*, 5(5), 471-480.
46. Ho, C. H. (2004). White blood cell and platelet counts could affect whole blood viscosity. *J Chin Med Assoc*, 67(8), 394-397.
47. Holm, T. M., Braun, A., Trigatti, B. L., Brugnara, C., Sakamoto, M., Krieger, M., Andrews, N. C. (2002). Failure of red blood cell maturation in mice with defects in the high-density lipoprotein receptor SR-BI. *Blood*, 99(5), 1817-1824.
48. Horobin JT, Sabapathy S, Simmonds MJ. (2017) Repetitive supra-physiological shear stress impairs red blood cell deformability and induces hemolysis, *Artif Organs.* 41(11),1017-1025.
49. Huijjes, R., Bogdanova, A., van Soligne, W., W., Schiffelers, R., M., Kaestner, L., van Wijk, R. (2018). Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability. *Front. physiol.*, 9:656.

50. Huo, Y., Ley, K. F. (2004). Role of platelets in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc. Med.*, 14(1), 18-22.
51. Jung, F., Krüger-Genge, A., Franke, R. P., Hufert, F., Küpper, J. H. (2020). COVID-19 and the endothelium *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 75(1), 7-11.
52. Kameneva, M. V., Antaki, J. F. (2007). Mechanical trauma to blood. In O.K. Baskurt, M.R. Hardeman, M.W. Rampling és H.J. Meiselman (Eds.), *Handbook of hemorheology and hemodynamics*, Baskurt O.K.; Hardeman M.R.; Rampling M.W.; Meiselman H.J. ed., IOS Press, Amsterdam. pp. 206-227.
53. Karbiner, M. S., Sierra, L., Minahk, C., Fonio, M. C., Bruno, M. P., Jerez, S. (2013). The role of oxidative stress in alterations of hematological parameters and inflammatory markers induced by early hypercholesterolemia. *Life Sci.*, 93(15), 503-508.
54. Karnaukh, N. G., Filipchenko, L. L., Koval'chuk, T. A., Bilyk, L. I., Levina, E. V. (2004). Morphologic changes due to hyperthermia (experimental study). [Morfologicheskie izmeneniia pri peregrevanii (éksperimental'noe issledovanie)] *Meditsina Truda i Promyshlennaia Ekologiya*, (5), 17-20.
55. Kertesz, A., Bombicz, M., Priksz, D., Balla, J., Balla, G., Gesztelyi, R., Varga, B., Haines, D. D., Tosaki, A., Juhasz B. (2013). Adverse impact of diet-induced hypercholesterolemia on cardiovascular tissue homeostasis in a rabbit model: Time-dependent changes in cardiac parameters. *Int. J. Mol. Sci.*, 14(9), 19086-19108.
56. Késmárky, G., Horváth, B., Tóth, K. Haemorheologiai változások. (2010). In: Császár, Albert (Eds.) *Atherosclerosis. Elmélet, klinikum*. Budapest, Magyarország. Medicina Könyvkiadó Zrt.
57. Kim, J. H., Lee, H., Lee, B. K., Shin, S. (2016). Influence of shear stress on erythrocyte aggregation. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 62(2), 165-171.
58. Kiss, F., Toth, E., Miszti-Blasius, K., Nemeth, N. (2016). The effect of centrifugation at various g force levels on rheological properties of rat, dog, pig and human red blood cells. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 62(3), 215-227.
59. Kiss, F., Toth, E., Peto, K., Miko, I., Nemeth, N. (2015). The investigation of interspecies diversity of erythrocyte aggregation properties by two different photometric methods in four animal species. *J Anim Physiol Anim Nutr.*, 99(6), 1074-1083.
60. Kolodgie, F. D., Katocs, A. S., Jr, Largis, E. E., Wrenn, S. M., Cornhill, J. F., Herderick, E. E., Lee, S. J., Virmani, R. (1996). Hypercholesterolemia in the rabbit induced by feeding graded amounts of low-level cholesterol. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 16(12), 1454-1464.
61. Koter, M., Franiak, I., Strychalska, K., Broncel, M., Chojnowska-Jeziarska, J. (2004). Damage to the structure of erythrocyte plasma membranes in patients with type-2 hypercholesterolemia. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 36(2), 205-215.
62. Koscielny J., Jung E.M., Mrowietz C., Kiesewetter H., Latza R. (2004) Blood fluidity, fibrinogen, and cardiovascular risk factors of occlusive arterial disease: Results of the Aachen study. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 31,185–195.
63. Króliczewska, B., Mišta, D., Zawadzki, W., Wypchło, A., Króliczewski, J. (2011). Effects of a skullcap root supplement on haematology, serum parameters and antioxidant enzymes in rabbits on a high-cholesterol diet. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 95(1), 114-124.
64. Krüger-Genge, A., Blocki, A., Franke, R. P., Jung, F. (2019). Vascular endothelial cell biology: An update. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(18), 4411.

65. Lapsha, V. I., Gurin, V. N. (2006). Changes in the ultrastructure of histohematic barrier in the rat right atrium after short-term and prolonged heat stress. *Morfologiya*, 129(1), 49-53.
66. Larcen, A., Lambert, H., Laprevote-Heully, M. C., Alexandre, P., Simon, M. (1978). Heat stroke and disseminated intravascular coagulation. apropos of 2 cases. [Coup de chaleur et coagulopathie de consommation. A propos de deux observations] *La Semaine Des Hopitaux: Organe Fonde Par L'Association D'Enseignement Medical Des Hopitaux De Paris*, 54(17-20), 603-619.
67. Lecklin, T., Egginton, S., Nash, G. B. (1996). Effect of temperature on the resistance of individual red blood cells to flow through capillary-sized apertures. *Pflugers Archiv : Eur. J. Appl. Physiol.*, 432(5), 753-759.
68. Lee, Y. T., Laxton, V., Lin, H. Y., Chan, Y. W. F., Fitzgerald-Smith, S., To, T. L. O., Yan, B., P., Liu, T., Tse, G. (2017). Animal models of atherosclerosis. *Biomedical Reports*, 6(3), 259-266.
69. Leverett, L.B., Hellums, J.D., Alfrey, C.P., Lynch, E.C. (1972) Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J.* 12(3), 257-73.
70. Lim, C. L., Byrne, C., Lee, J. K. (2008). Human thermoregulation and measurement of body temperature in exercise and clinical settings. *Ann. Acad. Med. Singap.*, Singapore, 37(4), 347-353.
71. Lipowsky, H. H. (2005). Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 12(1), 5-15.
72. Lozano, W. M., Arias-Mutis, O. J., Calvo, C. J., Chorro, F. J., Zarzoso, M. (2019). Diet-induced rabbit models for the study of metabolic syndrome. *Animals*, 9(7), 463.
73. Manno, S., Takakuwa, Y., Mohandas, N. (2002). Identification of a functional role for lipid asymmetry in biological membranes: Phosphatidylserine-skeletal protein interactions modulate membrane stability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(4), 1943-1948.
74. Matrai, A., Whittington, R.B., Ernst, E. (1987). A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 7(2), 261- 265.
75. McMahon, T.J. (2019). Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion. *Front. physiol.* 10:1417.
76. Meram, E., Yilmaz, B. D., Bas, C., Atac, N., Yalcin, O., Meiselman, H. J., Baskurt, O. K. (2013). Shear stress-induced improvement of red blood cell deformability. *Biorheology*, 50(3-4), 165-176.
77. Metivier, F., Marchais, S. J., Guerin, A. P., Pannier, B., London, G. M. (2000). Pathophysiology of anaemia: Focus on the heart and blood vessels. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 15 Suppl 3, 14-18.
78. Meurs, I., Hoekstra, M., van Wanrooij, E. J., Hildebrand, R. B., Kuiper, J., Kuipers, F., Hardeman, M. R., Van Berkel, T., J., C., Van Eck, M. (2005). HDL cholesterol levels are an important factor for determining the lifespan of erythrocytes, *Exp. Hematol.*, 33(11), 1309-1319.
79. Meiselman, H.J. (1981) Morphological determinants of red cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest; (Suppl 156)*, 27-34.
80. Milani-Nejad, N., Janssen, P. M. (2014). Small and large animal models in cardiac contraction research: Advantages and disadvantages. *Pharmacol. Ther.*, 141(3), 235-249.
81. Mohandas, N., Chasis, J. A. (1993). Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: Regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin. Hematol.*, 30(3), 171-192.

82. Monsanto, H. A., Renta-Muñoz, A., Dones, W., Comulada, A., Cidre, C., Orengo, J. C. (2014). The puerto rico cardiovascular risk-estimation study (PRCaRES): An exploratory assessment of new patients in physicians' offices. *P. R. Health Sci. J.*, 33(2), 58-64.
83. Mozos, I. (2015). Mechanisms linking red blood cell disorders and cardiovascular diseases. *Biomed Res. Int.*, 2015, 682054.
84. Mueller, T., Luft, C., Haidinger, D., Poelz, W., Haltmayer, M. (2002). Erythrocyte mean corpuscular volume associated with the anatomical distribution in peripheral arterial disease. *VASA. Zeitschrift Fur Gefasskrankheiten*, 31(2), 81-85.
85. Munn, L. L., Dupin, M. M. (2008). Blood cell interactions and segregation in flow. *Ann Biomed Eng.*, 36(4), 534-544.
86. Muravyov, A. V., Tikhomirova, I. A., Maimistova, A. A., Bulaeva, S. V., Mikhailov, P. V., Kislov, N. V. (2011). Red blood cell aggregation changes are depended on its initial value: Effect of long-term drug treatment and short-term cell incubation with drug. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 48(4), 231-240.
87. Nash, G., Watts, T., Thornton, C., Marigo, M. (2008). Red cell aggregation as a factor influencing margination and adhesion of leukocytes and platelets. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 39, 303-310.
88. Németh, N. (2020). *Haemorheologiai alapismeretek. Debreceni Egyetemi Kiadó. Debrecen.*
89. Nemeth, N., Alexy, T., Furka, A., Baskurt, O. K., Meiselman, H. J., Furka, I., Miko, I. (2009). Inter-species differences in hematocrit to blood viscosity ratio. *Biorheology*, 46(2), 155-165.
90. Nemeth, N., Deak, A., Szentkereszty, Z., Peto, K. (2018). Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 69(1-2), 133-140.
91. Nemeth, N., Furka, I., Miko, I. (2014). Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: An overview on our experimental surgical data. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 57(3), 215-225.
92. Nemeth, N., Kiss, F., Furka, I., Miko, I. (2010). Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 45(2-4), 263-272.
93. Nemeth, N., Miko, I., Furka, A., Kiss, F., Furka, I., Koller, A., Szilasi, M. (2012). Concerning the importance of changes in hemorheological parameters caused by acid-base and blood gas alterations in experimental surgical models. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 51(1), 43-50.
94. Nemeth, N., Sogor, V., Kiss, F., Ulker, P. (2016). Interspecies diversity of erythrocyte mechanical stability at various combinations in magnitude and duration of shear stress, and osmolality. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 63(4), 381-398.
95. Ogoina, D. (2011). Fever, fever patterns and diseases called 'fever' – A review. *J. Infect. Public Health*, 4(3), 108-124.
96. Picas, L., Rico, F., Deforet, M., Scheuring, S. (2013). Structural and mechanical heterogeneity of the erythrocyte membrane reveals hallmarks of membrane stability. *ACS Nano*, 7(2), 1054-1063.
97. Pizzi, C., De Stavola, B. L., Meade, T. W. (2009). Long-term association of routine blood count (coulter) variables on fatal coronary heart disease: 30-year results from the first prospective northwick park heart study (NPHS-I). *Int. J. Epidemiol.*, 39(1), 256-265.
98. Pretini, V., Koenen, M. H., Kaestner, L., Fens, M. H. A. M., Schiffelers, R. M., Bartels, M., Van Wijk, R. (2019). Red blood cells: Chasing interactions. *Front. physiol*, 10, 945.

99. Priksz, D., Bombicz, M., Varga, B., Kurucz, A., Gesztelyi, R., Balla, J., Toth, A., Papp, Z., Szilvassy, Z., Juhasz, B. (2018). Upregulation of myocardial and vascular phosphodiesterase 9A in A model of atherosclerotic cardiovascular disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(10), 2882.
100. Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M., Doudi, M., Baradaran, A., Nasri, H. (2014). Atherosclerosis: Process, indicators, risk factors and new hopes. *Int. J. Prev. Med.*, 5(8), 927-946.
101. Rakow, A. L., Hochmuth, R. M. (1975). Effect of heat treatment on the elasticity of human erythrocyte membrane. *Biophys. J.*, 15(11), 1095-1100.
102. Rampling, M. W. (2003). Hyperviscosity as a complication in a variety of disorders. *Semin. Thromb. Hemost.*, 29(5), 459-465.
103. Reinhart, W.H., Chien S. (1980) Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation: Roles of cell geometry and cell shape. *Blood*. 67:1110-8.
104. Renoux, C., Fort, R., Nader, E., Boisson, C., Joly, P., Stauffer, E., Robert, M., Girard, S., Cibiel, A., Gauthier, A., Connes, P. (2021). Impact of COVID-19 on red blood cell rheology. *Br. J. Haematol.*, 192(4), e108-e111.
105. Romanovsky, A. A. (2007). Thermoregulation: Some concepts have changed. functional architecture of the thermoregulatory system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 292(1), R37-46.
106. Schmid-Schönbein, H., Malotta, H., Striesow, F. (1990). Erythrocyte aggregation: Causes, consequences and methods for assessment. *Tijdschr NVKC* 1990; 15,88–97.
107. Simmonds, M. J., Detterich, J. A., Connes, P. (2014a). Nitric oxide, vasodilation and the red blood cell. *Biorheology*, 51(2-3), 121-134.
108. Simmonds, M.J., Atac, N., Baskurt, O.K., Meiselman, H.J., Yalcin, O. (2014b) Erythrocyte deformability responses to intermittent and continuous subhemolytic shear stress. *Biorheology*, 51(2-3),171-185.
109. Simmonds, M.J. Meiselman, H.J. (2016) Prediction of the level and duration of shear stress exposure that induces subhemolytic damage to erythrocytes. *Biorheology*, 53(5-6),237-249.
110. Singh, M., Stoltz, J. F. (2002). Influence of temperature variation from 5 degrees C to 37 degrees C on aggregation and deformability of erythrocytes. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 26(1), 1-7.
111. Snyder, G.K., Sheafor, B.A., Red Blood Cells: Centerpiece in the Evolution of the Vertebrate Circulatory System, *American Zoologist*, Volume 39, (2), 189–198
112. Sogor, V., Tanczos, B., Deak, A. (2016). Data interpretation of erythrocyte membrane mechanical stability test using the laser-assisted optical rotational cell analyzer. *Ser. Biomech.*, 30(1), 27-34.
113. Stuart, J., Stone, P. C. W., Freyburger, G., Boisseau, M. R., Altman, D. G. (1989). Instrument precision and biological variability determine the number of patients required for rheological studies. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 9, 181-197.
114. Szluha, K., Lazanyi, K., Furka, A., Kiss, F., Szabo, I., Pintye, E., Miko, I. Nemeth, N. (2014). Early micro-rheological consequences of single fraction total body low-dose photon irradiation in mice. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 57(3), 227-242.
115. Tomaiuolo, G. (2014). Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics*, 8(5), 051501.
116. Toth, C., Klarik, Z., Kiss, F., Toth, E., Hargitai, Z., Nemeth, N. (2014). Early postoperative changes in hematological, erythrocyte aggregation and blood coagulation

- parameters after unilateral implantation of polytetrafluoroethylene vascular graft in the femoral artery of beagle dogs. *Acta Cir. Bras.*, 29(5), 320-327.
117. Toth, C., Kiss, F., Klarik, Z., Gergely, E., Toth, E., Pető, K., Vanyolos, E., Miko, I., Nemeth, N. (2014). Following-up changes in red blood cell deformability and membrane stability in the presence of PTFE graft implanted into the femoral artery in a canine model. *Korea Aust. Rheol. J.*, 26, 209-215.
  118. Tzoulaki, I., Murray, G. D., Lee, A. J., Rumley, A., Lowe, G. D., Fowkes, F. G. (2007). Relative value of inflammatory, hemostatic, and rheological factors for incident myocardial infarction and stroke: The Edinburgh artery study. *Circulation*, 115(16), 2119-2127.
  119. Ulker, P., Sati, L., Celik-Ozenci, C., Meiselman, H.J., Baskurt, O.K. (2009) Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes. *Biorheology*, 46(2),121-132.
  120. Unruh, D., Srinivasan, R., Benson, T., Haigh, S., Coyle, D., Batra, N., Keil, R., Sturm, R., Blanco, V., Palascak, m., Franco, R.S., Tong, W., Chatterjee, T., Hui, D. Y., Davidson, W. S., Aronow, B. J., Kalfa, T., Manka, D., Peairs, A., Blomkalns, A., Fulton, D. J., Brittain, J.E., Weintraub, N. L., Bogdanov, V. Y. (2015). Red blood cell dysfunction induced by high-fat diet: Potential implications for obesity-related atherosclerosis. *Circulation*, 132(20), 1898-1908.
  121. Uyuklu, M., Cengiz, M. S., Ulker, P., Hever, T., Tripette, J., Connes, P., Nemeth, N., Meiselman, H. J., Baskurt, O.K. (2009). Effects of storage duration and temperature of human blood on red cell deformability and aggregation. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 41, 269-278.
  122. Vayá, A., Rivera, L., de la Espriella, R., Sanchez, F., Suescun, M., Hernandez, J. L., Fácila. L. (2015). Red blood cell distribution width and erythrocyte deformability in patients with acute myocardial infarction. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015;59(2),107-114.
  123. Vlad, M., Serboiu, C., Ispas, A., Giuvărășteanu, I., Ungureanu, E., Ionescu, N. (2013). Electron microscopy of the morphological changes in rat viscera during experimental hyperthermic shock. *J Med Life*, 6, 55-60.
  124. Wan, J., Ristenpart, W.D., Stone, H.A. (2008). Dynamics of shear-induced ATP release from red blood cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105(43), 16432-16437.
  125. Wang, N., Tall, A.R. (2016). Cholesterol in platelet biogenesis and activation. *Blood*, 127(16), 1949-1953.
  126. Wiewiora, M., Sosada, K., Wylezol, M., Slowinska, L., Zurawinski, W. (2007). Red blood cell aggregation and deformability among patients qualified for bariatric surgery. *Obes. Surg.*, 17(3), 365-371.
  127. Windberger, U., Bartholovitsch, A., Plasenzotti, R., Korak, K. J., Heinze, G. (2003). Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: Reference values and comparison of data. *Exp. Physiol.*, 88(3), 431-440.
  128. Windberger, U., Baskurt, O. K. (2007). Comparative hemorheology. In *Handbook of hemorheology and hemodynamics*, eds. O. K. Baskurt, M. R. Hardeman, M. W. Rampling, and H J.Meiselman. IOS Press, Amsterdam. 267-285.
  129. Yalcin, O., Ulker, P., Yavuzer, U., Meiselman, H. J., Baskurt, O. K. (2008). Nitric oxide generation by endothelial cells exposed to shear stress in glass tubes perfused with red blood cell suspensions: Role of aggregation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 294(5), H2098-105.

130. Yan, R. T., Fernandes, V., Yan, A. T., Cushman, M., Redheuil, A., Tracy, R., Vogel-Claussen, J., Bahrami, H., Nasir, K., Bluemke, D. A., Lima, J. A. C. (2010). Fibrinogen and left ventricular myocardial systolic function: The multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Am. Heart J.*, 160(3), 479-486.
131. Yarullina, D. R., Smolentseva, O. A., Kolpakov, A. I., Ilinskaya, O. N. (2010). High-temperature stress activates nitric oxide synthesis in *Lactobacillus plantarum*. *Doklady Biological Sciences: Proc. USSR Acad. Sci.*, 430, 70-71.
132. Zhang, Z., Yang, Y., Hill, M. A., Wu, J. (2012). Does C-reactive protein contribute to atherothrombosis via oxidant-mediated release of pro-thrombotic factors and activation of platelets? *Front. Physiol.*, 3, 433.
133. Zwieten, R. v., Bochem, A. E., Hilarius, P. M., Bruggen, R. v., Bergkamp, F., Hovingh, G. K., Verhoeven, A. J. (2012). The cholesterol content of the erythrocyte membrane is an important determinant of phosphatidylserine exposure. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 1821(12), 1493.

## 9.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények hitelesített listája



**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/364/2022.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tánczos Bence  
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Tánczos, B.**, Somogyi, V., Bombicz, M., Juhász, B., Németh, N., Deák, Á.: Changes of Hematological and Hemorheological Parameters in Rabbits with Hypercholesterolemia. *Metabolites*. 11 (4), 1-12, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11040249>  
IF: 5.581
2. Mátrai, Á. A., Varga, G., **Tánczos, 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

### További közlemények

3. Baráth, B., Somogyi, V., **Tánczos, 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
4. Szabó, B., **Tánczos, 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



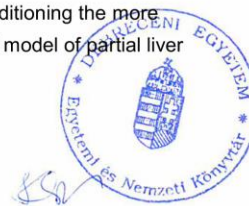


5. Ghanem, S., Lesznyák, T., Fazekas, L., **Tánczos, B.**, Baráth, B., Nasser, M., Horváth, L., Bidiga, L., Szabó, B., Deák, Á., Pető, K., Németh, N.: Microrheology, microcirculation and structural compensatory mechanisms of a chronic kidney disease rat model: a preliminary study.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 75 (1), 47-56, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-190763>  
IF: 2.375
6. Varga, G., Ghanem, S., Szabó, B., Nagy, K., Pál, N., **Tánczos, B.**, Somogyi, V., Baráth, B., Deák, Á., Matolay, O., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Which remote ischemic preconditioning protocol is favorable in renal ischemia-reperfusion injury in the rat?  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 76 (3), 439-451, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-200916>  
IF: 2.375
7. Ghanem, S., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Szabó, B., Deák, Á., Németh, N.: Modulation of micro-rheological and hematological parameters in the presence of artificial carotid-jugular fistula in rats.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 71 (3), 325-335, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-180411>  
IF: 1.741
8. Nemes, B. Á., Pető, K., Németh, N., Mester, A., Magyar, Z., Ghanem, S., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Deák, Á., Kállay, M., Bidiga, L., Frecska, E.: N,N-dimethyltryptamine Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model.  
*Transplant. Proc.* 51 (4), 1268-1275, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.04.005>  
IF: 0.784
9. Varga, G., Ghanem, S., Szabó, B., Nagy, K., Pál, N., **Tánczos, B.**, Somogyi, V., Baráth, B., Deák, Á., Pető, K., Németh, N.: Renal ischemia-reperfusion-induced metabolic and micro-rheological alterations and their modulation by remote organ ischemic preconditioning protocols in the rat.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 71 (2), 225-236, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-189414>  
IF: 1.741
10. Mester, A., Magyar, Z., Molnár, Á., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Pető, K., Németh, N.: Age- and gender-related hemorheological alterations in intestinal ischemia-reperfusion in the rat.  
*J. Surg. Res.* 225, 68-75, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2017.12.043>  
IF: 1.872





11. Magyar, Z., Mester, A., Nadubinszky, G., Varga, G., Ghanem, S., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Deák, Á., Bidiga, L., Mihai, O., Pető, K., Németh, N.: Beneficial effects of remote organ ischemic preconditioning on micro-rheological parameters during liver ischemia-reperfusion in the rat.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 70 (2), 181-190, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170351>  
IF: 1.642
12. Ghanem, S., **Tánczos, B.**, Deák, Á., Bidiga, L., Németh, N.: Carotid-Jugular Fistula Model to Study Systemic Effects and Fistula-Related Microcirculatory Changes.  
*J. Vasc. Res.* 55 (5), 268-277, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000491930>  
IF: 1.855
13. Somogyi, V., Pető, K., Deák, Á., **Tánczos, B.**, Németh, N.: Effects of aging and gender on micro-rheology of blood in 3 to 18 months old male and female Wistar (CrI:WI) rats.  
*Biorheology.* 54 (5-6), 127-140, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/BIR-17148>  
IF: 0.933
14. Pető, K., Németh, N., Mester, A., Magyar, Z., Ghanem, S., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Deák, Á., Bidiga, L., Frecska, E., Nemes, B. Á.: Hemorheological and metabolic consequences of renal ischemia-reperfusion and their modulation by N,N-dimethyltryptamine on a rat model.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 70 (1), 107-117, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170361>  
IF: 1.642
15. Mester, A., Magyar, Z., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Stark, Y., Cherniavsky, K., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Intestinal ischemia-reperfusion leads to early systemic micro-rheological and multiorgan microcirculatory alterations in the rat.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 68 (1), 35-44, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170278>  
IF: 1.642
16. Magyar, Z., Varga, G., Mester, A., Ghanem, S., Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Deák, Á., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Is the early or delayed remote ischemic preconditioning the more effective from a microcirculatory and histological point of view in a rat model of partial liver ischemia-reperfusion?  
*Acta Cir. Bras.* 33 (7), 597-608, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020180070000005>  
IF: 0.931





17. Szemán-Nagy, G., **Tánczos, B.**, Fidrus, E., Tálás, L., Bánfalvi, G.: Chemically Induced Cell Cycle Arrest in Perfusion Cell Culture.  
In: Cell cycle synchronization : methods and protocols. Ed.: by Gaspar Banfalvi, Humana Press, New York, 161-176, 2017.
18. Somogyi, V., **Tánczos, B.**, Deák, Á.: Data interpretation of erythrocyte membrane mechanical stability test using the laser-assisted optical rotational cell analyzer.  
*Series of Biomechanics*. 30 (1), 27-34, 2016.
19. Németh, N., Pető, K., Deák, Á., Somogyi, V., Varga, G., **Tánczos, B.**, Balog, K., Csiszkó, A., Godó, Z., Szentkereszty, Z.: Hemorheological factors can be informative in comparing treatment possibilities of abdominal compartment syndrome.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 64 (4), 765-775, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-168027>  
IF: 1.679
20. Turáni, M., Bánfalvi, G., Péter, Á., Kukoricza, K., Király, G., Tálás, L., **Tánczos, B.**, Dezső, B., Szemán-Nagy, G., Kemény-Beke, Á.: Antibiotics delay in vitro human stem cell regrowth.  
*Toxicol. Vitro*. 29 (2), 370-379, 2015.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.10.013>  
IF: 3.338
21. Szemán-Nagy, G., Benkő, I., Király, G., Vörös, O., **Tánczos, B.**, Sztrik, A., Takács, T., Pócsi, I., Prokisch, J., Bánfalvi, G.: Cellular and nephrotoxicity of selenium species.  
*J. Trace Elem. Med. Biol.* 30, 160-170, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.12.011>  
IF: 2.55
22. Bányai, E., Balogh, E., Fagyas, M., Arosio, P., Hendrik, Z., Király, G., Szemán-Nagy, G., **Tánczos, B.**, Pócsi, I., Balla, G., Balla, J., Bánfalvi, G., Jeney, V.: Novel functional changes during podocyte differentiation: increase of oxidative resistance and H-ferritin expression.  
*Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014, 1-10, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/976394>  
IF: 3.516





23. Benkő, I., Szemán-Nagy, G., **Tánczos, B.**, Ungvári, É., Sztrik, A., Eszenyi, P., Prokisch, J.,  
Bánfalvi, G.: Subacute toxicity of nano-selenium compared to other selenium species in mice.  
*Environ. Toxicol. Chem.* 31 (12), 2812-2820, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/etc.1995>  
IF: 2.618

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 48,203**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
7,992**

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, 2022.07.12.



## 10. TÁRGYSZAVAK

haemorheologia

atherosclerosis

állatkísérletes modell

hypercholesterinaemia

hőkezelés

vörösvérsejt membránstabilitás

összehasonlító elemzés

hemorheology

atherosclerosis

experimental animal model

hypercholesterolemia

heat treatment

red blood cell membrane

stability

comparative analysis

# KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani Témavezetőmnek, Dr. Deák Ádám adjunktus Úrnak, PhD témavezetésem előtt és alatt nyújtott segítségével és barátságáért. Megmutatta többek között a laborállatokkal való helyes bánásmódokat, segített és támogatott a közös TDK témavezetésnél, cikk írásnál és a disszertációval kapcsolatos teendők lebonyolításánál.

Hálás köszönetem Prof. Dr. Németh Norbert Tanszékvezető Úrnak, aki még laboranalitikusként meglátta bennem a PhD-hoz szükséges potenciált, és támogatott ezen célom elérésében. Bármikor fordulhattam hozzá szakmai segítségért legyen az haemorheologia, tudományos előadás vagy kísérlettervezés.

Továbbá köszönet illeti Dr. Somogyi Viktória tanársegédet, Dr. Mester Anitát, Baráth Barbara, Varga Ádám és Mátrai Ádám PhD hallgatókat, akikkel számos és számtalan órát eltöltöttünk a laboratóriumi mérések alatt, és csapatként jó hangulatban tudtuk egymás munkáját és a közös munkát előre lendíteni.

Köszönöm Dr. Szabó Balázsnak és Dr. Fazekas Lászlónak a mikrosebészeti kutatások alatt közösen végzett munkát és barátságukat az eltöltött idők alatt.

Köszönet illeti a Sebészeti Műtéttani Tanszék régi és jelenlegi Munkatársait a közös jó hangulatú évekért.

Szeretném megköszönni Szüleimnek és régi Barátaimnak az erőfeletti támogatást és szeretet, amit nyújtottak.

Továbbá köszönöm Prof. Dr. Tósaki Árpádnak, és az ELKH-DE-Pharmamodul Kutatócsoportnak, hogy támogattak disszertációm elkészültében.

Zárszóként szeretném Doktori Értekezésemet Édesapám emlékének ajánlani, aki sajnos már nem élhette ezt meg (Tánczos Tamás 1955-2020).

# FÜGGELÉK

**Az értekezés alapjául szolgáló *in extenso* közlemények**