

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**HAEMORHEOLOGIAI FAKTOROK
ÉS A MICROCIRCULATIO VIZSGÁLATA
KÍSÉRLETES VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIÓS
MODELLEKEN**

Dr. Németh Norbert

Témavezető:

Med. habil. Dr. Mikó Irén
az orvostudomány kandidátusa

Programvezető:

Prof. Dr. Fésüs László
akadémikus, az orvostudomány doktora

**Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Műtéttani Intézet**

Debrecen

2003

1. BEVEZETÉS

A vér áramlástanával foglalkozó tudományág a haemorheologia, melynek fogalmát Alfred Levin Copley (1910-1992) vezette be 1951-ben az érfal, valamint a vér alakos és plazmatikus komponensei áramlástanának összefoglaló leírására.

A teljes vér viszkozitását, mint a vér „imprint” rheologiai paraméterét számos tényező határozza meg: hőmérséklet, haematocrit, vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio, plazma viszkozitás, továbbá bizonyos mennyiségben felül a fehérvérsejt és thrombocytaszám, de kulcsfontosságú jelentőséggel bír a fibrinogén és globulinszint is, melyek közvetlen hatással vannak a plazma viszkozításra, emellett a fibrinogén a vörösvérsejtek aggregációs hajlamára is. A haemorheologiai faktorok között fontos szerepet játszanak a vörösvérsejtek alakváltozó képességét, deformabilitását leíró paraméterek. A megfelelő deformabilitási tulajdonság nemcsak a megfelelő perfúzió biztosításához elengedhetetlen, hanem a sejt élettartamát is befolyásolja.

A haemorheologia multidiszciplináris jellege miatt rendkívül széles körű alkalmazási és kutatási területet jelent, beleértve az alap- és klinikai kutatásokat. Ezeken belül is nagy jelentőséggel bírnak a különféle eredetű ischaemiás, illetve ischaemia-reperfúziós károsodások, beleértve a cardio-cerebrovascularis történéseket, a traumatologiai, sebészi jellegű érelzáródásokat, érelzárásokat, továbbá a szövet- és szervtranszplantációt.

Általánosan elfogadott, hogy a különböző eredetű érelzáródások, legyen az erek pathológiás, vagy traumás oclusiója, obturációja, illetve sebészeti időleges elzárása, az érintett szövetek/szervek elváltozását, ischaemia-reperfúziós károsodását idézhetik elő. Paradox módon az ischaemiás szövet keringésének újraindulása, azaz reperfúziója további károsodásokhoz vezethet, mint amelyek az ischaemia alatt jöttek létre. Ez a jelenség ischaemia-reperfúzió (I/R) néven ismert. Az I/R következményei és a távoli szöveti destrukciók nem ritkán letális szövődményeket is magukban foglalnak. Bár nagyléptékű előrehaladás figyelhető meg az érbetegségek kezelésében, az akut ischaemia egyike marad a leggyakoribb és legkomolyabb eseteknek, mely fenyegeti a szervek és végtagok funkciójának fenntartását, mégis a károsodások pontos pathomechanizmusa ma sem teljesen tisztázott.

Az ischaemia és az azt követő reperfúzió a szervekben, szövetekben számos folyamatot indíthat el, amelyek hatással lehetnek a vér rheologiai faktoraira, a

mikrokeringés morfológiai és funkcionális állapotára a lokális szövetkárosodás mellett. A pH változása, a szabadgyök-reakciók, a felszabaduló mediátorok, az adott régióban jelentkező, vagy a teljes testet érintő, a haemodynamikai egyensúlyban fellépő eltérések, a folyadékterek átrendeződése, vagy kóros elváltozásai mind befolyással lehetnek a haemorheológiai állapotra, annak számos paraméterén keresztül.

Az ischaemia során a hypoxiás sejtek energia tartalma gyorsan csökken, az ATP defoszforilálódik, ami az AMP-szintet nagymértékben növeli a sejtekben. Az AMP ezután tovább katabolizálódik adenzinná, inozinná és végül hipoxantinná. Ez szubsztrátja a xantin-oxidáznak (XO). Az enzim működéséhez szükséges másik szubsztrát az oxigén, amely nagyrészt reperfusiókor kerül az ischaemiás szövetbe, és szuperoxid képződést indukál. A XO egyike a legjelentősebb szuperoxid-forrásoknak. Az allopurinol és metabolitja az oxipurinol, a XO enzim effektív inhibitora, így hatékony szer lehet a szabadgyökök keletkezésével szemben I/R során.

Az emberi vörösvérsejtek rendkívül érzékenyek a szabadgyök károsodásokkal szemben, hiszen folyamatosan magas oxigén-koncentrációnak vannak kitéve, membránjuk sok, a peroxidációra hajlamos többszörösen telítetlen zsírsavat tartalmaz, ezen kívül gazdagok vasban, ami a szabadgyök-reakciók egyik katalizátora. A reaktív oxigén intermedierek részben a sejtmembrán direkt károsítása révén, részben Heinz-testek képzésével fenyegetik a sejtet, csökkentve deformabilitásukat, illetve haemolysist okozva.

A haemorheológiai faktorok vizsgálata így számos folyamatban értékes információt nyújt, de az experimentumban különböző állatmodelleken való alkalmazhatósága több problémát vet fel, főként a vizsgálatokhoz szükséges vér mennyisége, és az egyes fajok közötti eltérő jellegzetességek tekintetében.

Intézeti kutatásaink során több állatfajjal dolgozunk. A rheológiai paraméterek vizsgálhatósága és követhetősége tekintetében fajonként kellett a haemorheológiai méréseinket adaptálni. A laboratóriumi kisállatokon (egér, patkány) való alkalmazhatóságának igénye főként végtagi ischaemia-reperfusiós modellek, továbbá lép autotranszplantátumok funkciójának követéses vizsgálatai kapcsán merült fel.

További vizsgálati témakörünk a szöveti mikrokeringés. Az ischaemia-reperfusiós károsodás a microcirculatio területén vasospasmussal, az endothelium duzzadásával, fokozott capillaris permeabilitással, interstitialis oedema kialakulásával, subsequentialis thrombus formációval, „no-reflow” jelenséggel jellemezhető.

A mikrokeringés vizsgálatára számos invazív és non-invazív, direkt és indirekt eljárás ismert, melyek egyik elterjedt módszere a laser Doppleres szöveti áramlásmérés. Ismert standardizációs és összehasonlíthatósági nehézségei miatt szükségessé vált egy jól reprodukálható, standardizálható és összehasonlítható eredményeket nyújtó vizsgálati teszt kialakítása az ischaemia, illetve az ischaemia-reperfusio mikrokeringésre gyakorolt hatásainak elemzésére.

Mindezek ismeretében terveztük meg kísérleteinket, azok eredményeinek, illetve módszereinek esetleges gyakorlati, klinikai hasznosítása céljából.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. A rheologiai mérések adaptációja különböző laboratóriumi állatfajokra (egér, patkány, nyúl, keverék kutya, sertés), elemezve az összehasonlítás kérdését, feltárni esetleges fajspecifikus tulajdonságot.
2. Olyan beállítási módszer kidolgozása a Carat FT-1 típusú filtrométeren, amely lehetővé teszi kis laboratóriumi állatokon (egér, patkány) történő követéses vizsgálatok kivitelezését.
3. Rövid időtartamú, 1 órás ischaemia és az azt követő reperfusio a vörösvérsejtek deformabilitási tulajdonságára gyakorolt hatásának elemzése patkánymodellben 1 hetes követéses vizsgálat során, összehasonlítva egyes haematologiai paraméterekkel is. A károsodás kimutatásán kívül a modellben alkalmazott xantin-oxidáz inhibitor, az allopurinol preventív alkalmazásának feltételezhető előnyét is elemezni kívántuk.
4. Az 1 órás ischaemia közvetlen, a szöveti microcirculatióra gyakorolt hatásának elemzése laser Doppler szöveti áramlásméréssel, egy új teszt segítségével patkány végtagi ischaemiás modellen.
5. Egyik munkacsoportunk keverék kutyán kialakított modelljén a végtagi I/R lokális és szisztémás haemorheologiai hatásainak követése.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A haemorheologiai paraméterek közül a vörösvérsejt deformabilitást, a teljes vér és plazma viszkozitást, egyes haematologiai paramétereket és a fibrinogén szintet vizsgáltuk. Az értekezés első részét kitevő módszertani anyagnak megfelelően először a mérés technikai eljárások, majd ezek ismeretében és használatával megtervezett metodikai adaptációs és ischaemia-reperfúziós kísérletek kerülnek ismertetésre.

3.1. A vörösvérsejt deformabilitás meghatározása

3.1.1. Minta előkészítés

A vörösvérsejt deformabilitási vizsgálatokhoz szükséges vért nagy laboratóriumi állatoknál (keverék kutya, sertés) Na-heparint (143 IU) tartalmazó Vacutainer-csövekbe bocsátottuk le. Laboratóriumi kisállatoknál (egér, patkány) heparinózott fecskendőbe (10-20 IU/ml) vettük a vérmintát. A mintákat 10 percig 2500 g mellett centrifugáltuk, majd a plazmát és a „buffy coat”-ot eltávolítottuk. Ezt követően a sejtsuszpenziót kétszer mostuk foszfát pufferben (PBS; pH=7,4, ozmolaritás = 295 ± 5 mOsm/l). Az utolsó centrifugálás után a suszpenziót 1:1 arányban PBS oldattal hígítottuk, majd meghatároztuk a haematocrit értékét Janetzky-kapilláris centrifugával (5 perc), és a kapott haematocritnak megfelelően a mintát PBS-sel tovább hígítottuk a méréshez szükséges sejtsuszpenzió-haematocritra (1-5%).

3.1.2. A deformabilitás mérés kivitelezése

A St. George's Blood Filtrometer elvén működő Carat FT-1 típusú filtrométerrel (Carat Diagnosztika Kft.) határoztuk meg az erythrocyták deformálódási képességét. A méréseket a mintavételtől számított 2 órán belül elvégeztük kontrollált 22 ± 1 °C-os környezetben.

A vörösvérsejt-suszpenziót 5 μ m átlagos pórusátmérőjű polycarbonat filteren áramoltattuk át (Nuclepore[®], Whatman Inc.) állandó (negatív) áramlási nyomás mellett (4 vízcm). A folyadék-oszlop haladási sebességét 4 pár fényforrás-fotodetektor jeléből számítja ki a szoftver, és meghatározza az initial relative filtration rate (IRFR), valamint a suszpenzió haematocritjának ismeretében a relative cell transit time (RCTT) paramétereket.

3.2. Teljes vér és plazma viszkozitás mérése

A vért zárt rendszerben, Na-heparinnal gyárilag bevont falú Vacutainer-csőbe bocsátottuk. A vérvételek során ügyeltünk a tartós strangulatio elkerülésére. A méréseket a vérvételtől

számított 2 órán belül *Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel* (Hemorhex Kft.) végeztük. A készülék két, temperált olajfürdőbe (37 °C) merülő kapilláris csőből áll (500x0,6 mm), amelyek mentén 40-40 pár fotodetektor található. A folyadék kapillárisba töltését követően a készülék opto-elektronikusan rögzíti a meniscus pontos helyzet-idő diagramját, amit egy interface-n keresztül a csatlakozó computerbe továbbít, mely a meghatározott nyírófeszültség és sebesség-gradiens szerint kifejezi a viszkozitást. A teljes vér viszkozitás (TVV) jellemzésére a 90 s^{-1} sebesség-gradiensnél mért értékeket [mPas] használtuk. Az adatokat feldolgoztuk Mátrai és munkatársai által ajánlott matematikai formula segítségével is 40%-os haematocritra korrigált formában ($\text{TVV}_{40\%}$) a minta plazma viszkozitása (PV) és a haematocritja (Htc) figyelembe vételével: $\text{TVV}_{40\%} / \text{PV} = (\text{TVV} / \text{PV})^{40\% / \text{Htc}}$

3.3. A fibrinogén szint meghatározása

Clauss módszerén alapuló eljárás szerint Sysmex CA-500 típusú automata koagulométerrel történt (TOA Medical Electronics Co., Japán).

3.4. Haematologiai paraméterek meghatározása

Sysmex F-800 típusú automata használatával (TOA Medical Electronics Co., Japán).

3.5. A kísérletes modellek leírása

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” alkotott törvény előírásait betartva végeztük, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyével. A szerző kísérleteinek engedélyszáma: 6/2000. DE MÁB.

3.5.1. Haemorheologiai mérések fajspecifikus adaptációja

3.5.1.1. Kísérleti állatok az összegző-összehasonlító elemzéshez

Több kísérletsorozatban felhasznált eltérő fajú, kontroll (ép) csoportokhoz tartozó állatok kizárólag a különféle műtéti beavatkozások előtt vett vérmintáinak vörösvérsejt deformabilitási, és vérviszkozitási paramétereit összegeztük: A/J inbred egér (23-28 g, n=20), CD outbred patkány (250-350 g, n=36), nyúl (3,2-3,8 kg, n=32), keverék kutya (20-25 kg, n=62), juvenilis Durok/Cornwall sertés (30-35 kg, n=13). A vizsgálatokhoz szükséges vér vétele patkányban a v. femoralisból, illetve a v. saphenából, egerekben intracardialis punctióval, nyulakban a lateralis fülvénából, kutyákban a v. cephalicából, sertésekben a v. femoralisból történt az aktuális kísérleti protokollok szerint.

3.5.1.2. Egy hetes követéses vizsgálat kivitelezhetőségének elemzése

Húsz CD outbred közép súlyú (250-350 g) hím patkányt használtunk 1 hetes összehasonlító alapvizsgálatra. Altatást követően (Na-pentobarbital, 35 mg/kg, i.p., 0,01 mg/kg atropinum-sulfuricum, s.c.) bal oldalon mikrosebészeti módszerrel feltártuk a v. femoralist, amelynek 25 G-s tűvel történő punctiójával 2-2,5 ml vért vettünk. A vérvételt követően 3 ml testhőmérsékletű fiziológiás sóoldatot juttattunk az állatba intraperitonealisan. Az érfalon ejtett szűrt sérülést 2-3 öltéssel (10-0 Prolene®) elláttuk, a fascia lata-t és a bőrt külön rétegekben zártuk. Az állatnak a posztoperatív szakaszban vízhez és táplálékhoz való szabad hozzáférést biztosítottunk. Egy hét elteltével a hasonlóan feltárt jobb oldali v. femoralison megismételtük a vérvételt, és pentobarbitálos túlaltatással extermináltuk az állatokat.

Az alap és az 1 hét múlva vett vérmintákból meghatároztuk a haematologiai paramétereket és 5%-os haematocritra hígított vörösvérsejt szuszpenziót használva elvégeztük a deformabilitási méréseket.

3.5.1.3. Deformabilitás méréshez hígítási sor készítése

Tíz CD outbred közép súlyú patkányt Na-pentobarbitállal altattunk, majd a feltárt v. femoralis punctiója során 3-4 ml vért vettünk, majd a bőrseb egy-egy ötléssel való zárása után Na-pentobarbital túlaltatással extermináltuk az állatokat. A vérmintákat egyenként öt részre osztottuk és vörösvérsejt deformabilitás mérésre előkészítettük 5, 4, 3, 2, illetve 1%-os haematocritú vörösvérsejt-szuszpenzióként, majd elvégeztük a filtrációs méréseket.

3.5.2. Végtagi I/R haemorheologiai vizsgálata patkányban

3.5.2.1. Műtéti protokoll

A fentebb leírt és kidolgozott módszertani adaptáció birtokában 1 órás végtagi I/R haemorheologiai, vörösvérsejt deformabilitási követéses vizsgálatát végezhetjük el, amelyben 26 közép súlyú hím CD outbred patkányt használtunk. Altatást követően (Na-pentobarbital) jobb oldalon a v. jugularis externát minden állatban kanüláltuk. Ezt követően az állatokat random négy csoportba soroltuk.

(I) A *Kontroll csoport*ban más műtéti beavatkozás nem történt (n=6). (II) Az *Áloperált csoport*ban bal oldalon feltártuk a femoralis ereket és collateralis ágait. A műtéti területet 1 óra időtartamra nedves, testhőmérsékletű steril gézzel fedve nyitottan hagytuk (Áloperált csoport, n=6). (III) Az *Ischaemia-Reperfüsiós csoport*ban az a. és v. epigastrica superficialis

ligatúráját követően microvascularis klipekkel 1 óra időtartamra leszorítottuk az a. és a v. femoralist (I/R, n=6). Az ischaemiás periódust követően a klipeket eltávolítottuk. (IV) Az *Allopurinollal előkezelt Ischaemia-Reperfüsiós csoportnál* az előbbi csoportéval azonos beavatkozást végeztük, a protokollt 30 perccel az ischaemia indukciója előtt alkalmazott 50 mg/kg allopurinol előkezeléssel egészítettük ki (AP+I/R, n=8).

Minden csoportban alpmintaként 0,6-0,7 ml vért vettünk a kanülált v. jugularisból, mely ép kontrollként szolgált. A vérvétel után közvetlenül 2 ml fiziológiás sóoldatot juttattunk intraperitonealisan az állatokba (az AP+IR csoportban az oldat tartalmazta az allopurinolt). A műtéteket követően a vénás kanült eltávolítottuk, a combhajlatban a fascia latát és a bőrt egyszerű csomós öltésekkel zártuk.

3.5.2.2. Laboratóriumi vizsgálati protokoll

A műtétet követő 1 héten át naponta 0,6-0,7 ml vért vettünk a contralateralis v. saphenából, 1%-os vörösvérsejt-szuszpenziót készítve megmértük a vörösvérsejt deformabilitási paramétereket, valamint meghatároztuk a haematologiai paramétereket.

3.5.3. Végtagi I/R microcirculációs vizsgálata patkányban

3.5.3.1. Műtéti protokoll

Tizenkét hím altatott CD outbred patkányt (250-350 g) használtunk. A műtői hőmérsékletet a kísérleti protokoll teljes ideje alatt kontrolláltan 23-25 °C-on tartottuk. Az állatok teste alá fűthető padot helyeztünk a konstans 37 °C-os testhőmérséklet fenntartása érdekében, melyet kontrolláltunk a kísérlet teljes ideje alatt.

Mindkét oldalon feltártuk az a. és v. femoralist, láthatóvá tettük a m. quadriceps femoris medialis vastusát és a m. sartoriust. Két lekötés között átvágtuk az a. és v. epigastrica superficialist, öltéssel lekötöttük a hasfalban az a. és v. epigastrica caudalist (inferiort). Ezután kétoldali alsó haránt laparotomiát végeztünk, és feltártuk az a. és v. iliaca externát. Ezt követően a bal oldali a. és a v. femoralist microvascularis klipekkel 1 óra időtartamra leszorítottuk (Ischaemiás oldal), a műtéti területet steril, nedves gézlappal fedtük. Az állat folyamatos megfigyelése és az 1 óra letelte után a klipeket eltávolítottuk. A jobb oldalt használtuk kontrollnak. A metszéseket néhány öltéssel zártuk, majd az állatokat pentobarbitálos túlaltatással extermináltuk.

3.5.3.2. A laser Doppler szöveti áramlásmérés és az „occlusió”-teszt

A szöveti microcirculatio objektív, non-invazív és jól reprodukálható mérési eljárásainak kutatása során fejlesztették ki a laser Doppleres szöveti áramlásmérést (Stern 1975). Számos tényező befolyásolhatja a méréseket a vizsgált szövet, a készülék tulajdonságai és külső tényezők által. Nehezíti továbbá az összehasonlító elemzést, hogy a készülék relatív áramlási egységeket ad meg.

Kifejlesztettünk egy speciális tesztet, az úgynevezett „occlusió”-tesztet, egy-csatornás laser Doppler készüléket (LD-01 Laser Doppler Flowmeter, Experimetria Kft.) használva. Az állványon rögzített laser Doppler mérőfejet (NP-100 Standard Pencil Probe) a m. vastus medialisra helyeztük érközelben. A laser Doppler jel stabilizálódása után 2-3 másodpercre atraumatikus eszközzel leszorítottuk, majd felengedtük az a. és v. iliaca externát, míg a laser Doppler jelet folyamatosan rögzítettük (Haemosys konfiguráció, Experimetria Kft.).

A 3.5.3.1. fejezetben leírt beavatkozások előtt és után, mindkét oldalon 3-3 tesztet végeztünk. Az egymást követő „occlusió”-tesztek közötti időtartam 10 másodperc volt. Az ischaemiás oldalon így a mérések a reperfusio első 5-10 percében történtek beleszámítva a mérőfej rögzítését és a jel stabilizálódását is.

3.5.3.3. A rögzített laser Doppler jel analízise

Az „occlusió”-tesztek elvégzése után: (1) Megmértük a leszálló (descendáló, Desc, D) és a felszálló (ascendáló, Asc, A) görbeszakaszok időbeni hosszát, amelyek leírják a keringés eltűnését és újraindulását. (2) Szoftveres átlagvonal illesztése után meghatároztuk a le- és felszálló szakaszok kezdete és 50%-os amplitúdó értékei között mért időintervallumokat (T_{50}) az ischaemiás és a kontroll oldalon, beavatkozások előtt és után. (3) Ezt követően kiszámoltuk a leszálló/felszálló görbeszakaszok T_{50} értékeinek arányát (D/A index $[D/A_i] = T_{50Desc}/T_{50Asc}$).

3.5.4. Prolongált végtagi I/R haemorheologiai vizsgálata keverék kutyán

Intézetünk egyik munkacsoportja kidolgozott egy végtagi ischaemia-reperfusió modell keverék kutyán. E munkacsoport eredményeiből az ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás haemorheologiai vonatkozásai tartoznak értekezésem témájához, a műtéti modell idevonatkozó része itt röviden kerül ismertetésre.

Tizenegy, 3-4 éves hím és nőstény keverék kutyában (18-26 kg) anaesthesiát (ketamin 10 mg/kg + xylazin 1 mg/kg, i.m.) követően kipreparálásra és kanülálásra került a bal oldali v. jugularis externa. Az állatok random 2 csoportot alkottak:

- I. Áloperált csoport (n=6): jobb oldalon feltárássra került az a. és a v. femoralis, majd 7 óra múlva sebzárás történt.
- II. Ischaemia-reperfusio csoport (n=5): a feltárt a. és v. femoralis atraumatikus érleszorító eszközzel történő lezárása 3 óra időtartamú volt. Ezzel egyidőben a lágyrészek kirekesztése – a femoralis erek alatt – a comb körül megfeszített acélhurokkal történt. Az érleszorítók a 3 óra letelte után, az acélhurok csak újabb 4 óra elteltével, azaz a reperfusio 4. órája végén kerültek eltávolításra.

A szisztémás keringésből és a kirekesztett végtagból nyert vérmintákból a haematocrit, a vörösvérsejt deformabilitás, a teljes vér és plazma viszkozitás, valamint a fibrinogén szint változásai kerülnek összegzésre.

3.6. Statisztikai analízisek

A statisztikai elemzéshez SigmaStat szoftvert (SigmaStat 1.0, 1992-1994., Jandel Scientific Co., Németország) használtunk. A *fajspecifikus haemorheologiai adaptációnál* az 1 hetes, két mintavételes vizsgálatnál páros t-tesztet, illetve Wilcoxon signed rank tesztet használtunk. A *hígítási sor* elemeinek haematocrittal való összefüggését lineáris regresszió analízissel végeztük. A *patkány végtagi I/R* kísérleteknél egyirányú variancia analízissel a csoportokon belül Wilcoxon, a csoportok között Mann-Whitney rank sum tesztet használtunk. A *keverék kutyákon* végzett kísérletekben a csoportokon belüli összehasonlítást ANOVA és Dunnett's tesztel, a csoportok között Mann-Whitney és Kruskal-Wallis tesztel végeztük. A statisztikailag szignifikáns eltérést $p < 0,05$ szintnél fogadtuk el.

4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

4.1. Haemorheologiai mérések fajspecifikus adaptációja

4.1.1. Haemorheologiai paraméterek összegző-összehasonlító elemzése

Vörösvérsejt deformabilitás

Egér, patkány, nyúl, kutya és sertés vonatkozásában csaknem lineárisan emelkedő RCTT értékeket találtunk, ha a fajokat méretük alapján csoportosítottuk. Ez alól a nyúl volt kivétel, ahol a mért értékek a patkányénál kisebbek voltak. Összevetve ezt az RCTT eloszlást az

átlagos vörösvérsejt-térfogattal (mean corpuscular volume, MCV), hasonló a tendencia mutatkozott azzal a kivétellel, hogy a nyúlnál mért MCV értékek nagyobbak a patkányénál, és közel azonosak a kutya értékeivel, míg a sertés MCV-je meglepően alacsonynak bizonyult. Egyes tankönyvi, vörösvérsejt átmérőkre vonatkozó faji összehasonlító adatokkal összevetve az RCTT értékek általunk talált eloszlását, hasonlóságot találtunk.

Teljes vér és plazma viszkozitás

Patkány, nyúl, keverék kutya és sertés véreből meghatározott plazma viszkozitás lényeges eltérést nem mutatott. A teljes vér viszkozitás kiugróan magas volt patkány esetében, ami a 40%-os haematocritra való korrekció után is megmaradt.

A különböző állatfajokon végzett haemorheológiai mérések eredményei alátámasztják azt a megállapítást, hogy összehasonlító vizsgálatokat csak a fajspecifikus tulajdonságok, adott fajra adaptált, standardizált mérés technikai módszerek használatával lehet végezni. A vörösvérsejt deformabilitás értékeiben talált szembetűnő különbségek összefüggésbe hozhatóak a sejtek átmérőjével, illetve méreteivel. Hasonló következtetésre jutottak Chen (1994), Baskurt (1996) és Katyukhin (1998) munkacsoportjai is.

4.1.2. Egy hetes követéses vizsgálat kivitelezhetőségének elemzése

A faji különbségek összehasonlítása után *adott fajokon* belül kívántuk a megfelelő *metodikai adaptációt* elvégezni, hiszen a tervezett követéses vizsgálatok alkalmazása magában foglalja a gyakoribb, akár naponkénti vérvételek igényét is. Az eredetileg használt standard metodikai leírás szerint meghatározott vérmennyiség biztosítása kis laboratóriumi állatok (egér, patkány) esetén komoly nehézségekbe ütközik. A vörösvérsejt deformabilitás módszertani leírásának megfelelő méréséhez CD patkánytól (n=20) 1 hetes idő-különbséggel vett vérmintákból (2-2,5 ml), 5%-os mérési haematocrit értékeknél meghatározott RCTT deformabilitási paraméter szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott ($p=0,0098$), míg a haematológiai paraméterek nem jeleztek szignifikáns különbséget. A 2-2,5 ml vér vétele egy haemopoieticus indukciót jelenthetett, amelynek következtében a keringésben nagyobb számú fiatal, jó mechanikai tulajdonságokkal rendelkező vörösvérsejt jelenhetett meg. Ez magyarázhatja a jobb deformabilitást a 7. napi mintákban.

4.1.3. Deformabilitás méréshez hígítási sor készítése

A vörösvérsejt deformabilitás metodikája teoretikusan lehetővé teszi a szükséges vérmennyiség csökkentését abban az esetben, ha a szuszpenziót 5%-nál kevesebb

haematocritúra, akár 1%-osra hígítjuk. A patkányvérből (n=10) készített 1-5%-os vörösvérsejt szuszpenziókból álló hígítási sor elemzésénél az általunk vizsgált tartományban közel lineáris összefüggést találtunk a mért RCTT értékek és a haematocrit között (linearis regressio=0,216). Bár a szomszédos elemek között jelentős különbséget nem találtunk, a szélső elemek között már szignifikáns különbség jelentkezett (1% vs. 4% $p=0,0186$, vs. 5% $p=0,0116$; 2% vs. 4% $p=0,018$, vs. 5% $p=0,0115$). Eredményeink azt sugallják, hogy a különböző haematocritú szuszpenziónál mért értékeket nem lehet együtt kezelni, ám a következetesen azonos koncentrációjú szuszpenzió történő mérés erre lehetőséget ad.

Munkánk eredményeként tehát *lehetőségünk nyílt 1%-os vörösvérsejt szuszpenzió használatával meghatározni a vörösvérsejt deformabilitási paramétereket, amelyhez 0,5-0,6 ml vér vétele elegendő lehet. Így patkányban alkalmassá válhat a módszer a filtrométerrel történő vörösvérsejt deformabilitási követéses vizsgálatok elvégzésére, amelyre az irodalomban nem találtunk példát.*

4.2. Végtagi ischaemia-reperfusio haemorheologiai vizsgálata patkányban

4.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás

Az 1%-os deformabilitás mérési beállítást használtuk 1 hetes követéses vizsgálatban patkány hátsó végtagi ischaemia-reperfusio vonatkozásában. Az relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT) az Ischaemia-Reperfusiós csoportban (I/R) emelkedett szintet mutatott az 1. - ($8,552 \pm 1,116$; vs. I/R alap: $p=0,006$; vs. Kontroll: $p=0,0002$) és a 2. posztoperatív napon ($14,616 \pm 3,766$; vs. I/R 1. nap: $p=0,0006$; vs. I/R 3. nap: $p=0,0184$; vs. Kontroll: $p<0,0001$; vs. Áloperált: $p=0,008$; vs. AP+I/R: $p=0,0025$), míg a Kontroll és az Áloperált csoport nem mutatott szignifikáns eltérést. Az allopurinollal előkezelt csoport (AP+I/R) RCTT értékei enyhe emelkedést mutattak a 2. és 5. posztoperatív napokon, amely eltérés nem bizonyult szignifikánsnak.

A rövid időtartamú, 1 órás ischaemia és az azt követő reperfusio kimutatható *változásokat eredményezett a vörösvérsejtek deformabilitásában, mely valószínűleg a szabadgyökök károsító hatásának tudható be, és allopurinol előkezeléssel kivédhető volt.*

4.2.2. Haematologiai paraméterek

A vörösvérsejtszám, a haemoglobin szint és a haematocrit értékek fokozatosan csökkentek, az egyes csoportok között azonban szignifikáns eltérés nem volt. Az *átlagos vörösvérsejt térfogat és haemoglobin tartalom* értékek enyhe emelkedést mutattak a posztoperatív

periódusban, mely emelkedés a 7. npra szignifikáns különbséget ért el az I/R és az AP+I/R csoportban a Kontroll csoporthoz viszonyítva. *Bár a filtrációs mérésen végzett metodikai eljárás kivitelezhető volt az egy hetes követési periódusban, a naponkénti vérvételek hatására a haematologiai paraméterek mérsékelt tendenciát mutattak az anaemia felé.*

A fehérvérsejtszám nem mutatott karakterisztikus és szignifikáns változásokat. A thrombocytaszám folyamatos emelkedés mutatott minden csoportban, szignifikánsan magas értékeket eredményezve az I/R és az AP+I/R csoportokban a 7. napon a Kontroll csoporthoz képest. A thrombocytaszám emelkedés részét képezheti a sebészi-traumát követő akut fázis történéseknek, de nem zárható ki a naponkénti, perifériás vérvételek hatása sem. Az átlagos thrombocyta térfogat csak az I/R csoportban szignifikánsan emelkedett a 2. napon a Kontroll csoporthoz viszonyítva ($p=0,0011$), majd a kiindulási értékek irányába tért vissza, majd a Kontroll és az Áloperált csoportokkal együtt a 4-7. napon további csökkenés mutatott. 1974-ben írták le először a thrombocytaszám és térfogat inverz viszonyát, az sugallva, hogy szorzatuk, az ún. „platelet mass” közel állandó. Adataink összességében a „platelet mass” növekedését mutatták minden csoportban, de legkifejezettebben az ischaemia-reperfüsiós csoportban.

4.3. Végtagi ischaemia-reperfüsió microcirculatiós vizsgálata patkányban

Karakterisztikus különbségek figyelhetők meg az 1 órás ischaemiás periódust követően az „occlusió”-teszt során rögzített laser Doppler görbe le- és felszálló szakaszain összehasonlítva a Kontroll oldallal, illetve a beavatkozás előtti állapottal.

Nem volt szignifikáns különbség a fel- és leszálló szakaszok 50%-os amplitúdójánál mért idő értékekben (T_{50}) a beavatkozások előtt. Az 1 órás ischaemia után a felszálló görbeszakasz T_{50} értéke (T_{50Asc}) szignifikánsan hosszabb volt, összehasonlítva az ischaemiás inzultus előtti állapottal ($p=0,0007$), vagy a Kontroll oldallal ($p=0,0017$). A leszálló szakaszok szintén jellemző változásokat mutattak az ischaemiásan érintett oldalon. A T_{50} érték (T_{50Desc}) itt szignifikánsan rövidebb volt, mint a Kontroll oldal (beavatkozás előtt $p=0,0016$; beavatkozás után $p=0,0049$), vagy az azonos oldal beavatkozás előtti állapotának értékeihez képest ($p=0,0029$). A D/A index ($D/A_i=T_{50Desc}/T_{50Asc}$) tekintetében ez azt jelentette, hogy az index 1,00 feletti értékekről 1,00 alatti értékekre váltott.

A teszt *előnye* az egyszerűség, a gyors kivitelezhetőség, az ismételhetőség, melyet adataink kismértékű szórása is bizonyít. A kapott adatok függetleníthetőek a kiindulási és végponti

relatív áramlási egységektől. Az általunk kidolgozott „occlusió”-tesztnek néhány *hátránya* is van. A mérések során az a. és a v. saphena közelsége zavarhatja a microcirculatio korrekt vizsgálatát, továbbá az anaesthesia is hatással lehet a microcirculatióra, ráadásul a preparálás során fellépő lágyszövet-trauma hatása sem zárható ki. A standard körülmények között végzett mérések során nyert adatok összehasonlító elemzése azonban véleményünk szerint elvégezhető.

Az „occlusió”-teszt során rögzített áramlási görbe leszálló szakasza rövidebbnek, a felszálló szakasza hosszabbnak bizonyult a normál viszonyokhoz hasonlítva. Ez azt sugallja, hogy ischaemiát követően, a reperfusio első perceiben a keringés könnyebben áll le, illetve nehezebben indul újra tesztjeink során. Ennek magyarázata lehet a capillarisk funkcionális állapotának változása mellett a microvascularis haematocrit eloszlási különbségei, illetve a csökkent vörösvérsejt deformabilitás. *A bemutatott módszerünk alkalmas lehet a jövőben a különböző sebészeti beavatkozások microcirculatiós hatásának gyors, intraoperatív elemzésére.* Eredményeink még előzetesek, a mérés biztonságának megteremtése és további matematikai elemzése indokolja ezirányú vizsgálataink folytatását.

4.4. Prolongált végtagi I/R haemorheologiai vizsgálata keverék kutyán

4.4.1. Vörösvérsejt deformabilitás

Az Áloperált csoport RCTT értékei jelentős változásokat nem mutattak. Az Ischaemia-Reperfusió (I/R) csoportban a posztoperatív időszakban kiugróan magas RCTT értékeket találtunk a 2. és 3. napon, amely emelkedés az alap- és a 3. napon az Áloperált csoport értékeihez képest szignifikáns volt ($p < 0,0001$, $p = 0,0023$, egyenként). Az RCTT emelkedés a 4-5. napra mérséklődni látszott, a 4. napon mért értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a 3. napon mért értékekhez képest ($p = 0,0086$).

4.4.2. Teljes vér viszkozitás

A 90 s^{-1} sebesség-gradiensnél mért teljes vér viszkozitás értékeket vizsgálva, az Áloperált csoportban a műtéti periódus alatt mérsékelt viszkozitás emelkedést találtunk, amely az 1. posztoperatív napig tartott, majd a 2. napra lecsökkent. Az I/R csoport teljes vér viszkozitása a 3 órás ischaemiás periódust követő 30. percben vett mintában volt magasabb, majd csúcspontját az 1. napon elérve ($p = 0,0377$ vs. alap) a 2-5. napig mérsékelt ütemű csökkenést mutatott. A 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás értékek a

posztoperatív periódusban az I/R csoportban emelkedett értékeket mutattak. A legmagasabb értékek az 5. napon mutatkoztak.

4.4.3. Plazma viszkozitás

Az Áloperált csoportokban plazma viszkozitás-emelkedést találtunk a 3 órás periódus végén, a legmagasabb értéket az 1. posztoperatív napon érte el ($p=0,0459$ vs. alap), majd a 2-5. napon a kiindulási értékek alá csökkent. Az I/R csoport PV értékei az 1. napra megemelkedtek a kiindulási értékekhez képest ($1,29\pm 0,041$ mPas), majd a 2-3. napra tapasztalt mérsékelt csökkenés után a 4-5. napon szembetűnő emelkedést mutattak.

4.4.4. Fibrinogén szint

Az 1. posztoperatív naptól kezdődően mindkét csoportban folyamatos emelkedést találtunk, amely a 3-5. napra stabilizálódni látszódott. A legnagyobb mértékű emelkedés az I/R csoportban mutatkozott, ahol az 1. és 2. nap értékei között közel kétszeres változást találtunk ($p<0,0001$). Az I/R csoportban értékei a 2-5. napon szignifikánsan magasabbak voltak a kiindulási értékekhez képest ($p<0,0001$, $p=0,001$, $p=0,0003$, $p=0,0011$, egyenként), míg az Áloperált csoportnál ez az eltérés a 3. naptól volt megfigyelhető, de az 5. napig szignifikánsan magasabbnak bizonyult az alapértékekhez képest ($p=0,0154$, $p=0,0373$, $p=0,0315$, egyenként).

4.4.5. Haematocrit

A haematocrit értékek a műtéti periódus alatt mérsékelt emelkedést mutattak, az 1. posztoperatív napra jelentősen megemelkedtek az alapértékekhez képest, majd a 2-5. napon lecsökkentek. A legnagyobb mértékű haematocrit csökkenés az 1. és a 2. nap között az Áloperált csoportban volt megfigyelhető ($p=0,0335$). A 2-3. nap között jelentős változásokat nem figyeltünk meg, míg a 3-4. nap között az I/R csoportban szignifikáns haematocrit csökkenést tapasztaltunk ($p=0,0277$).

4.4.6. A kirekesztett vénás vér tulajdonságai az ischaemia-reperfúziós csoportban

Az I/R csoport műtét előtt és a kirekesztett végtagból vett (vénás) vérmintáit vizsgálva az RCTT, a teljes vér viszkozitás, valamint a haematocrit értékek a kirekesztett esetben szignifikánsan magasabbak voltak az alapértékekhez képest ($p=0,0011$, $p=0,036$, $p=0,0001$,

egyenként). A 40%-os haematocritra korrigált vér viszkozitás, a plazma viszkozitás és a fibrinogén szint szignifikánsan nem különbözött. Az RCTT értékek a kirekesztett végtagokból vett mintákban szignifikánsabban magasabbak voltak az a felengedés utáni szisztémás értékekhez a viszonyítva is ($p=0,034$).

A *vörösvérsejt deformabilitás* romlása a korai posztoperatív időszakban a korábban bemutatott patkány végtagi ischaemia-reperfúziós modellünk eredményeihez hasonlóan alakult, ahol az RCTT értékek emelkedését az 1-2. napon mutattuk ki. Feltételezhetően a szabadgyökök károsító hatása következtében válhattak rigidebbé a vörösvérsejtek.

A *teljes vér viszkozitás* 1. posztoperatív napon megfigyelt emelkedése összefüggésbe hozható a *haematocrit* növekedésével, az 1. nap után megfigyelt viszkozitás csökkenés a mért alacsonyabb haematocrittal. A 40%-os Htc-ra való korrekció után a teljes vér viszkozitás a posztoperatív periódusban közel állandónak bizonyult, enyhe emelkedést mutatva, amely szignifikánsan magasabb értékeket eredményezett az I/R csoportban az 5. napra. A haemoconcentratio, a teljes vér és *plazma viszkozitás*, valamint a *fibrinogén szint növekedése* a fehérvérsejt- és thrombocytaszám változásaival együtt a műtéti beavatkozások következménye lehet (Koppensteiner, 1996).

Az ischaemia alatt, a stasis során megnövekedhet a haematocrit, a folyadékterek átrendeződése, a vörösvérsejtek térfogat- és deformabilitás változása, aggregatiója következtében emelkedhet a vér viszkozitása. A kirekesztett végtagban lezajló anaerob folyamatok a vér összetételét, pH-ját megváltoztathatják, ami szintén befolyásolja a vörösvérsejtek deformabilitását. Fontos szempont kísérleteink vonatkozásában, hogy a bármilyen okból megváltozott rheológiájú vér érfalnál mutatott nyírófeszültsége befolyásolja az endothel-sejtek működését. A létrejövő endothelialis dysfunctio további folyamatokat indukálhat az érfalban, és nagymértékben befolyásolhatja az adott régió keringését, mikrokeringését.

5. ELÉRT FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEGZÉSE

1. Haemorheologiai vizsgálatainkat összehasonlító jelleggel több állatfajra – egér, patkány, nyúl, kutya, sertés – kiterjesztettük.
2. Az egyes faktorok tekintetében lényeges faji különbségek mutatkoznak. Szembetűnő az eltérés a vörösvérsejt deformabilitás filtrációs technikával mért jellemzői tekintetében, ami összefüggésben állhat a vörösvérsejtek méretével.

3. Méréstechnikai adaptációs munkánk során sikerült az FT-1 filtrométerrel történő vörösvérsejt deformabilitás mérést 1 hetes követéses vizsgálatban patkányokon alkalmazni kismennyiségű vér naponkénti vétele mellett.
4. Patkányban 1 órás végtagi ischaemiát követően a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns romlását mutattuk ki a korai posztoperatív időszakban (1-2. nap) 1 hetes vizsgálati periódus során. A mutatkozó változás allopurinol előkezeléssel kivédhető volt. Így feltételezhető, hogy a vörösvérsejt deformabilitás romlását az ischaemia-reperfusio során keletkező szabadgyökök okozzák.
5. Patkányban 1 órás végtagi ischaemia és az azt követő reperfusio után az átlagos vörösvérsejt térfogat, a thrombocytaszám és az átlagos thrombocyta térfogat jelentősen emelkedett a posztoperatív periódusban.
6. Keverék kutyában 3 órás végtagi ischaemia és az azt követő reperfusio után, a 2-3. napon a vörösvérsejt deformabilitás jelentősen romlott. A teljes vér- és plazma viszkozitás, valamint a fibrinogén szint a posztoperatív napokon változó mértékű, de folyamatos emelkedést mutatott. Az eltérések egy része összefüggésbe hozható a beavatkozások által okozott sebészi traumával, más része a szabadgyökök okozta károsodásokkal.
7. A kirekesztett régióból a keringés újraindulásakor a lokális anyagcsere folyamatok és fizikai viszonyok hatására megváltozott, rheológiailag lényegesebben rosszabb minőségű vér áramlik a test többi részébe, amely kóros érrendszer esetén távolabbi szervekben, szövetekben idézhet elő károsodásokat.
8. Kidolgoztunk egy jól reprodukálható, egyszerű tesztet („occlusiós”-teszt) laser Doppleres szöveti áramlásmérés technikát alkalmazva. Értékelésével következtetni lehet a szöveti mikrokeringés akut változásaira, és ezekre vonatkozó válaszadó képességére ischaemiás károsodást követően. A teszt alkalmazásával patkányban 1 órás végtagi ischaemiát követően a harántcsíkt izomszövet mikrokeringésének szignifikáns romlását mutattuk ki a reperfusio első perceiben.
9. A haemorheológiai faktorok és a szöveti microcirculatio vizsgálata a végtagi ischaemia-reperfusió károsodások pathophysiologiai történéseivel kapcsolatban értékes információkat nyújthat.

Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények:

1. **Nemeth N.**, Lesznyak T., Brath E., Acs G., Nagy A., Pap-Szekeres J., Furka I., Miko I.: Changes in microcirculation after ischemic process in rat skeletal muscle. *Microsurgery*, 2003;23:419-423. **IF: 0,803**
2. Miko I., Brath E., **Nemeth N.**, Toth F.F., Sipka S., Kovacs J., Sipka S. Jr., Fachel J., Furka A., Furka I., Zhong R.: Hematological, hemorheological, immunological and morphological studies of spleen autotransplantation in mice: preliminary results. *Microsurgery*, 2003;23:483-488. **IF: 0,803**
3. **Németh N.**, Ács G., Lesznyák T., Bráth E., Imre S., Urbán F., M. Menzel, Furka I., Mikó I.: Vörösvérsejt deformabilitás mérési tapasztalataink különféle laboratóriumi állatfajokon. *Magy. Állatorvosok*, 2004; **IF: 0,051** – *in press*
4. **Nemeth N.**, Lesznyak T., Acs G., Furka I., Imre S., Miko I.: Relation of short-term hind limb ischemia and red blood cell deformability at special settings for follow-up in rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **IF: 0,623** - *submitted*

Az értekezéssel összefüggő egyéb közlemények és könyvfejezet

1. Mikó I., Furka A., Ács G., **Németh N.**, Sipka S., Oláh A.V., Bráth E., Furka I.: Laboratory follow up of spleen autotransplants after experimental spleen injuries. *Eur. Surg., Suppl.* 189, 2002;34:10-12.
2. Csízy I., Furka I., Cserni T., Józsa T., Oláh Cs., Pető K., **Németh N.**, Mikó I.: Szöveti microcirculatio mérése kísérletes ureter-neoimplantációk során. *Orv. Hetil.*, 2003;144:129-132.
3. Pap-Szekeres J., Cserni G., Furka I., Svebis M., Cserni T., Brath E., **Nemeth N.**, Miko I.: Transplantation and microsurgical anastomosis of free omental graft. Experimental animal model of a new operative technique in dogs. *Microsurgery*, 2003;23:414-418. **IF: 0,803**
4. **Nemeth N.**, Szokoly M., Acs G., Brath E., Lesznyak T., Furka I., Miko I.: Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **IF: 0,623** – *in press*
5. Bráth E., Furka I., **Németh N.**, Szabó Gy., Pető K., Ács G., Lesznyák T., Cserni T., Pap Szekeres J., Mikó I.: Changes in the deformability of red blood cells caused by mesenteric ischemia-reperfusion injury. An experimental animal study. In: Boros M. (ed.): *Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research*, Monduzzi Editore, 2002, pp. 281-284.

Impakt faktor összesen: 3,083

Az értekezéssel összefüggő, lektorált folyóiratokban megjelent idézhető abstractok

1. **Németh N.**, Lesznyák T., Szabó Gy., Ács G., Mikó I., Furka I.: Ischaemia-reperfusio kapcsán kialakuló károsodások vizsgálata musculocutan szabadlebenyeken. Előkísérleti adatok. *Magy. Seb., Suppl.*, 2001, 27-27.

2. **Németh N.**, Lesznyák T., Ács G., Bráth E., Furka I., Mikó I.: Follow-up of red blood cell deformability after short hindlimb ischemia in rat. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:83-84. **IF: 0,903**
3. **Németh N.**, Ács G., Lesznyák T., Szabó Gy., Bráth E., Pető K., Dán A., Tumpek J., Furka I., Mikó I.: Special adaptation of different measuring methods on experimental animals in the aspect of ischemia-reperfusion injuries. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:84-84. **IF: 0,903**
4. **Németh N.**, Lesznyák T., Ács G., Pető K., Bráth E., Furka I., Mikó I.: Relation between short-term hindlimb ischemia and red blood cell deformability by special measuring setting for follow-up in rat. Biorheology, 2002;39:607-607. **IF: 1,845**
5. **Németh N.**, Ács G., Szokoly M., Bráth E., Furka I., Mikó I.: Hemorheological changes after experimental warm and cold hind limb ischemia and reperfusion. Eur. Surg. Res., 2003;35:294-294. **IF: 0,903**
6. **Németh N.**, Lesznyák T., Ács G., Nagy Á., Furka I., Mikó I.: Measurement of microcirculation and rheological properties of blood on ischemic rat hind limb. Eur. Surg. Res., 2003;35:294-294. **IF: 0,903**
7. **Németh N.**, Ács G., Furka I., Sefcsik I., Mikó I.: Haemorheologiai faktorok fajspecifikus összehasonlítása és mérési adaptációja sebészi modellekhez. Magy. Seb., 2003;56:151-151.
8. **Németh N.**, Ács G., Szokoly M., Nagy D., Lesznyák T., Bráth E., Furka I., Mikó I.: Changes of hemorheological factors and microcirculation of skeletal muscle after ischemia-reperfusion. A summarized research report. Exp. Clin. Cardiol., 2003;8:45-46.

Egyéb kutatási témákból lektorált folyóiratokban megjelent idézhető abstractok

1. Lesznyák T., **Németh N.**, Szabó Gy., Ács G., Mikó I., Furka I.: Omentonephropexia és a veseműködés monitorozása. Előzetes megfigyelések. Magy. Seb., Suppl., 2001, 24-24.
2. Pap Szekeres J., Furka I., Svébis M., Cserni T., **Németh N.**, Mikó I.: Cseplesz-lebény nyeresének lehetőségei szabad transplanatio céljából. Előkísérletes adatok. Magy. Seb., Suppl., 2001, 32-32.
3. Szokoly M., Ács G., Bráth E., **Németh N.**, Lesznyák T., Mikó I., Furka I.: Surgical security by limb replantation – an experimental amputate model. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:93-94. **IF: 0,903**
4. Pap Szekeres J., Furka I., Svebis M., Cserni T., Bráth E., **Németh N.**, Mikó I.: Omental flap harvesting for free transplantation. Preliminary data on the operative technique in dog. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:87-88. **IF: 0,903**
5. Lesznyák T., **Németh N.**, Ács G., Mikó I., Furka I.: An experimental model for alternative blood supply of the kidney in the aspect of renal function. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:47-47. **IF: 0,903**

6. Bráth E., Furka I., Szabó Gy., Pető K., Ács G., **Németh N.**, Lesznyák T., Cserni T., Pap Szekeres J., Mikó I.: Changes of red blood cell deformability caused by mesenteric ischemia-reperfusion injury. An experimental animal study. Eur. Surg. Res., Suppl. 1, 2002;34:64-64. **IF: 0,903**
7. Ács G., Szokoly M., Bráth E., **Németh N.**, Lesznyák T., Furka I., Mikó I.: Follow-up of hemorheological changes after ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle in animal model. Int. J. Artif. Organs, 2002;25:704-704. **IF: 1,192**
8. Lesznyák T., **Németh N.**, Ács G., Mikó I., Furka I.: Kidney neovascularization by the great omentum with omental angiogenic factor. Int. J. Artif. Organs, 2002;25:707-707. **IF: 1,192**
9. Mikó I., Bráth E., **Németh N.**, Tóth F.F., Sipka S. Jr., Furka I.: Monitoring of spleen autotransplants by hematological, hemorheological, immunological and morphological methods in mice: Preliminary data. Eur. Surg. Res., 2003;35:288-288. **IF: 0,903**
10. Szokoly M., Ács G., **Németh N.**, Nagy D., Furka I., Mikó I.: Correlation between clinical cases and an experimental amputate model. Eur. Surg. Res., 2003;35:314-314. **IF: 0,903**
11. Ács G., Szokoly M., **Németh N.**, Lesznyák T., Furka I., Mikó I.: Monitoring of haemostasis parameters after ischaemia-reperfusion injury in an animal model. Eur. Surg. Res., 2003;35:316-316. **IF: 0,903**
12. Ács G., Szokoly M., **Németh N.**, Pekár Gy., Furka I., Mikó I.: Végtagi ischaemia-reperfusio indukálta lokális és szisztémás változások monitorozási lehetőségei állatmodellen. Magy. Seb., 2003;56:138-139.
13. Bráth E., Mikó I., Kovács J., Tóth F.F., Facht J., **Németh N.**, Furka I., Zhong R.: Lehet-e egyidejűleg több szerv-chipet transzplantálni egyszerű modellben? Előzetes szövettani adatok. Magy. Seb., 2003;56:142-142.
14. Pető K., **Németh N.**, Incze D., Furka I., Mikó I.: Haemorheologiai változások vese ischaemia-reperfusió károsodása kapcsán. Magy. Seb., 2003;56:152-153.
15. Szokoly M., Ács G., **Németh N.**, Bráth E., Hamar J., Mikó I., Furka I.: Összefüggések kísérletes amputációs modellek és a klinikai esetek között. Magy. Seb., 2003;56:155-155.
16. Cserni T., Csízy I., Furka I., Józsa T., Pap Szekeres J., Szabó J., Bráth E., **Németh N.**, Mikó I.: Tiermodell für den Vergleich der Antireflux Effektivität der verschiedenen hepatischen Portoenterostomien für Gallengangatresie. Eur. Surg., Suppl 195, 2003;4-5.
17. Ács G., **Németh N.**, Furka A., Pap Szekeres J., Gulyás A., Zsótér J., Furka I., Mikó I.: Preliminary data on intermittent Pringle's (Baron's) manoeuvre in a canine model. Eur. Surg., Suppl 195, 2003;16-17.

Kumulatív impakt faktor összesen: 3,083 (in extenso) + 14,162 (abstract)