

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**A vörösvérsejt aggregatio haematocrit függőségének vizsgálata,
valamint változásai policisztás ovárium szindróma során**

Bedőcs-Baráth Barbara

Témavezető: Dr. Deák Ádám



**DEBRECENI EGYETEM
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2023.

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK.....	3
1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. Haemorheológiai paraméterek	6
2.1.1. Vörösvérsejt aggregatio	6
<i>2.1.2.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása.....</i>	<i>11</i>
2.1.2. Vörösvérsejt deformabilitás	13
<i>2.1.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás meghatározása.....</i>	<i>16</i>
2.2. Fajok közötti különbségek	16
2.3. Policisztás ovárium szindróma	18
<i>2.3.1. Policisztás ovárium szindróma kísérletes modellek.....</i>	<i>24</i>
3. CÉLKITŰZÉS	28
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	29
4.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában	29
<i>4.1.1. Kísérleti állatok és humán mintavétel</i>	<i>29</i>
<i>4.1.2. Minta előkészítés</i>	<i>30</i>
<i>4.1.3. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása.....</i>	<i>30</i>
5.1.3.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-transzmissziós elven	30
4.1.3.2. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-reflektancián alapuló módszerrel	31
<i>4.1.4. Statisztikai analízis</i>	<i>32</i>
4.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a micro-rheológiai paraméterekre	32
<i>4.2.1. Kísérleti állatok, kezelési és mintavételi protokoll.....</i>	<i>32</i>
<i>4.2.2. Oestrus ciklus meghatározás.....</i>	<i>33</i>
<i>4.2.3. Laboratóriumi mérések</i>	<i>35</i>
4.2.3.1. Testtömeg és vércukorszint meghatározás	35
4.2.3.2. Haematológiai paraméterek meghatározása.....	35
4.2.3.3. Haemorheológiai paraméterek meghatározása.....	36
4.2.3.4. Hormonszint mérések.....	37
<i>4.2.4. Szövettani vizsgálatok</i>	<i>38</i>
<i>4.2.5. Statisztikai analízis</i>	<i>38</i>

5. EREDMÉNYEK	39
5.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában	39
5.1.1. <i>Haematologiai paraméterek</i>	39
5.1.2. <i>Vörösvérsejt aggregatio</i>	39
5.1.2.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-transzmissziós módszerrel	39
5.1.2.2. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény reflektancián alapuló módszerrel	42
5.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a mikro-rheologiai paraméterekre	46
5.2.1. <i>Oestrus ciklus meghatározás</i>	46
5.2.2. <i>Laboratóriumi mérések</i>	47
5.2.2.1. Testtömeg és vércukorszint meghatározás	47
5.2.2.2. Haematologiai paraméterek meghatározása	48
5.2.2.3. Haemorheologiai paraméterek meghatározása	51
5.2.2.4. Hormonszint mérések	52
5.2.2.5. Szövettani vizsgálatok	52
6. MEGBESZÉLÉS	55
6.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában	55
6.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a mikro-rheologiai paraméterekre	60
7. FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	65
8. ÖSSZEFOGLALÁS	66
9. SUMMARY	67
10. IRODALOMJEGYZÉK	68
10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke	68
10.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények hitelesített listája	81
11. TÁRGYSZAVAK	84
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	85
13. FÜGGELÉK	87

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

AI: Aggregációs index

Amp: Amplitúdó

cAMP: Ciklikus adenzin-monofoszfát

DHEA: Dehidroepiandroszteron

DHT: Dihidrotesztoszteron

EI: Elongációs index

El_{max}: Maximális elongációs index

EV: Ösztradiol-valerát

FSH: Folliculus stimuláló hormon

Gi fehérje: adenilát-ciklázt gátló protein

GnRH: gonadotropin felszabadító hormon

Hct: Haematocrit

LH: Luteinizáló hormon

NO: Nitrogén-monoxid

NOS: Nitrogén-monoxid szintetáz

PCOS: Policisztás ovárium szindróma

ROS: Reaktív oxigén szabadgyökök

t_{1/2}: Fél-amplitúdó idő

*„A tudományos munkát nem a közvetlen
haszna alapján kell megítélni.
Önmagáért, a tudomány szépségéért kell végezni.”
(Marie Curie)*

1. BEVEZETÉS

A haemorheologia, ahogy Alfred Levin Copley, a tudományág atyjaként is emlegetett amerikai haematologus 1951-ben megfogalmazta: *„A vér sejt és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése.”* [1]. Az utóbbi évtizedekben egyre szélesebb körben kezdték el a haemorheológiai kutatásokat, így egyre több és több pathológiás folyamat véráramlásra, és kifejezetten a vörösvérsejtekre gyakorolt hatásáról kaphatunk információt, köszönhetően az alkalmazható mérési módszerek széles skálájának, mint a különböző fény-transzmisszió, fény-reflektancián alapuló mérőmódszereknek, az ektacytometriás, mikroszkópos és filtrációs technikáknak [2–6].

A haemorheológiai paramétereket, mint a teljes vér- és plazmaviszkozitást, a vörösvérsejt deformabilitást és aggregációt számos tényező befolyásolja. Ezek a befolyásoló tényezők már jól ismertek, azonban az egyes paraméterek egymásra hatását még nem ismerjük teljesen. Korábbi kutatások már kimutatták, hogy a haematocrit és a teljes vérviszkozitás kapcsolata nem lineáris [7], ahogy az aggregatio-haematocrit kapcsolat sem [8]. Leírták továbbá, hogy a haematocrit-viszkozitás kapcsolat [7], a centrifugálás okozta mechanikus trauma [9], valamint az aggregatio, a deformabilitás és a sejtmembrán stabilitás is faji eltéréseket is mutat [10,11].

Számos pathológiás folyamat során tapasztalunk változásokat a haemorheológiai paraméterekben. Főként a szív- és érrendszert érintő betegségekben, mint a magas vérnyomás, a myocardialis infarctus, de metabolikus elváltozások esetén is, mint a II-es

típusú diabetes mellitus, vagy az inzulin rezisztencia [6,12–18]. A policisztás ovárium szindróma (PCOS) nagyon gyakori megbetegedés a reprodukív korú nők körében [19–25]. Bár a kardiovaszkuláris és metabolikus elváltozások PCOS-ben gyakoriak, továbbá a haemorheológiai paraméterek nemi eltéréseket is mutatnak, ennek ellenére a policisztás ovárium szindrómában jelentkező haemorheológiai változásokat leíró tudományos publikációk száma kevés.

Vizsgálataink egyik része az aggregatio-haematocrit kapcsolat fajok (humán, patkány, kutya, sertés) közötti különbségeinek feltárására irányult, míg másik részében a policisztás ovárium szindróma haemorheológiai hatásait kívántuk vizsgálni, patkánymodellben.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Haemorheológiai paraméterek

A haemorheológiai paraméterek között elkülöníthetünk macro-rheológiai (teljes vérviszkozitás, plazma viszkozitás) és micro-rheológiai (vörösvérsejt deformabilitás, aggregatio, membrán stabilitás) paramétereket. A paraméterek egymásra hatását az 1. ábra mutatja be.



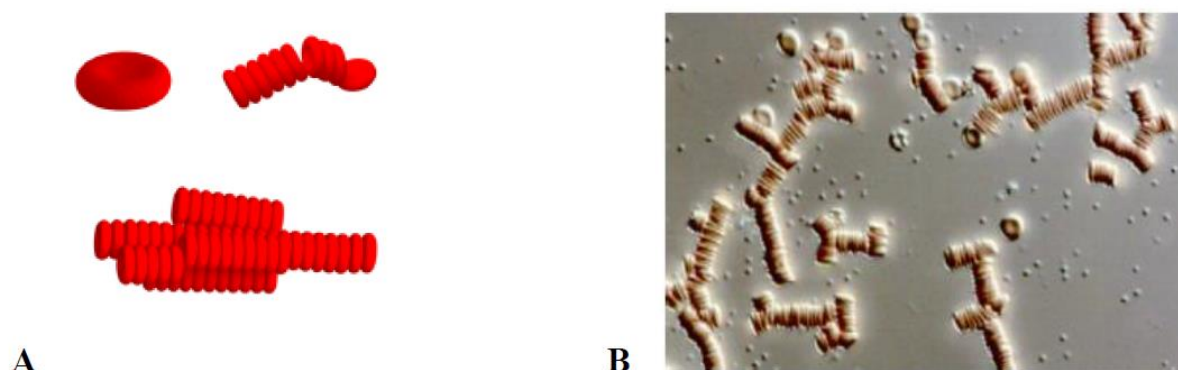
1. ábra

A haemorheológiai paraméterek és más befolyásoló tényezők egymásra hatása
(A Sebészeti Műtéttani Tanszék ábraanyaga alapján)

2.1.1. Vörösvérsejt aggregatio

Az erythrocyták reverzibilis összekapcsolódását stasisban, illetve alacsony nyírófeszültség ($<20 \text{ s}^{-1}$) mellett, vörösvérsejt aggregatiónak nevezzük [3,6,17,26–29]. Az aggregatio két fázisra osztható, az első pár másodperc (1-5 mp) alatt lezajlik, ekkor a sejtek rouleaux, vagyis pénztekercs formát vesznek fel, majd az ezt követő hosszabb (10-60 mp)

szakaszban, ezek már többfelé elágazó alakzatokat alkotva összekapcsolódnak (2. ábra) [3,6,17,30].



2. ábra

A vörösvérsejt aggregatio során kialakuló rouleaux, és háromdimenziós aggregátumok sematikus és mikroszkópos képe
(Yeom és Lee 2015; Simmonds és mtsai 2013. alapján [28,31])

Az aggregatio létrejöttének folyamata még nem teljesen tisztázott, kialakulását jelenleg két különböző elmélet próbálja megmagyarázni. Az első az úgynevezett „depletiós modell”, amely szerint a vörösvérsejtek folyamatosan közelednek egymáshoz, ezáltal kiszorítva a sejtek közül a nagy makromolekulákat, így létrehozva a makromolekulaszegény depletiós zónát. Ebben az esetben az aggregatio létrejöttét a plazma makromolekula koncentrációja és a depletiós zóna között létrejövő ozmotikus grádiensnek tulajdonítják. A másik elmélet, a „bridging hipotézis”, ami azt feltételezi, hogy az egymáshoz közel kerülő erythrocyták között a makromolekulák alakítanak ki nem-kovalens keresztkötéseket, ezek a gyenge kötések a disaggregációs (aggregatio ellen ható) erők hatására felbomlanak [3,6,17,30–33].

Bosek és mtsai (2022) különböző koncentrációjú és molekulatömegű dextrán oldatban vizsgálták az aggregatio mértékét. Azt találták, hogy az aggregatio függ a szuszpendáló közeg dextrán koncentrációjától és a benne található makromolekulák molekulatömegétől. A legmagasabb aggregatiót 3-4 g/dL dextrán koncentrációnál és 500

kDa molekulatömegnél találták [30]. Ezek az eredmények sem adnak azonban biztos magyarázatot egyik hipotézisre sem. Az eredmények alapján következtethetünk a „depletiós modellre”, azáltal, hogy azt feltételezzük, hogy a kezdeti interakciós energia emelkedés a növekvő makromolekula koncentrációval (ami az aggregatio emelkedését okozza), a megemelkedett ozmotikus nyomásnak köszönhető, míg az emelkedő dextrán koncentrációval bekövetkező későbbi csökkenés hátterében a depletiós zóna keskenyedése állhat. A „bridging hipotézisre” több magyarázat is lehet, többek között az, hogy a koncentráció változásával a dextrán molekulák konformációja is változik, ezáltal befolyásolva a vörösvérsejtek között keresztkötések létrejöttét [30].

A létrejövő aggregatumok jellemző tulajdonságai a méretük, valamint a porozitásuk. Utóbbi jelentősen befolyásolja a vér rheológiai tulajdonságait: amennyiben az aggregatum porózusabb, az csökkenti annak effektív sűrűségét, ezáltal lehetővé teszi a vörösvérsejtek közötti térben a folyadék áramlását. A két tulajdonság egymás függvényében való vizsgálata információt adhat a kialakult sejtcsoport geometriájáról [30].

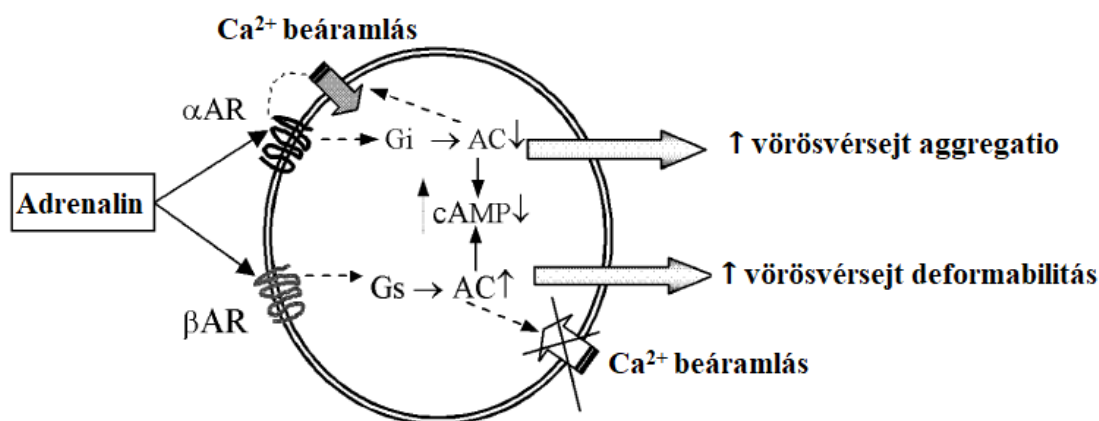
Mehri és mtsai különböző haematocrit (Hct) értékű szuszpenziók alkalmazásával vizsgálták a létrejövő aggregatumok méretét. 5% Hct esetén a méret nem függött jelentősen a nyírófeszültségtől, azonban 10% Hct-nál alacsonyabb nyírófeszültség esetén nőtt az aggregatumok mérete. Emellett mérték a minták viszkozitását, és megállapították, hogy az aggregatum méret növekedése nem áll lineáris kapcsolatban az emelkedő viszkozitással [34].

Az aggregatio mértékét különböző celluláris és plazmatikus elemek befolyásolják. Ide sorolható a szuszpendáló közeg (pl. a vérplazma) összetétele, a vörösvérsejtek tulajdonságai (felszíni sajátságok, mechanikus jellemzők), de befolyásoló tényező a nyíróerő nagysága is, ami az egyik legjelentősebb disaggregációs erő. Ezen kívül az aggregatio

kialakulása ellen hat az elektrosztatikus repulzió (a felszíni negatív töltések következtében) és a membrán saját merevsége (aminek fő meghatározója a membránt alkotó lipid kettős réteg fehérje tartalma). Az aggregatiót elősegítő (ún. aggregációs) erők között kiemelten fontos a szuszpendáló közeg összetétele, mivel a nagy méretű plazmafehérjék (pl. fibrinogén, IgM, C-reaktív protein) elősegíthetik, míg egyes plazmaproteinek csak enyhén (IgG, haptoglobin, α 1-glycoprotein), vagy egyáltalán nem játszanak szerepet (transzferrin, coeruloplazmin, albumin) az aggregatio kialakulásában; illetve a megfelelő deformabilitás, ami elengedhetetlen a párhuzamos membránfelszínek kialakításához, ami az aggregatio létrejöttéhez szükséges [5,6,17,28,31,35,36]. Mivel a vörösvérsejt aggregatio kialakulásához szükséges a megfelelő deformabilitás (2.1.2. fejezet), e paraméter romlása magával hozza az elégtelen aggregatiót is. A reaktív szabadgyökök hatására csökken az aggregatio mértéke, azonban az aggregátumokban az erythrocyták közötti kapcsolat erőssége megnő. Ez azt jelenti, hogy bár nehezebben aggregálódnak a vörösvérsejtek, a létrejövő aggregátumok csak nagyobb erőhatásra fognak szétesni [37].

Leírták továbbá, hogy egyes jelátviteli útvonalak is hatással vannak az aggregációra (3. ábra). Extracelluláris ligandok között megtalálhatóak hormonok, illetve különböző prosztaglandinok, amelyek befolyásolják a vörösvérsejt aggregatiót. A katekolaminok, azáltal, hogy regulálják az oxigén szállítást és a sejtanyagcserét, kihatnak a kapillárisokban az aggregatio módosításával a véráramlásra. Muravyov és mtsai (2014) α és β adrenerg receptor agonisták jelenlétében mérték az aggregatiót. Kimutatták, hogy az α -receptor stimulálása nagyobb hatással van az aggregációra, jelentősen megemelve azt [38]. Azt már korábban megállapították, hogy a prosztaglandinok hatással vannak a micro-rehologiai paraméterekre [39,40]. A PGE1, PGE2, PGI2 csökkentik az aggregatiót, a PGF2 α azáltal, hogy segíti a Ca²⁺ sejtbe jutását, emeli az aggregatiót [38].

Az intracelluláris jelátviteli útvonalaknak is jelentős szerepe van az aggregatio szabályozásában. A Ca^{2+} beáramlás serkentése, illetve a kiáramlás blokkolása esetén emelkedett aggregatiót mutattak ki, a beáramlás csökkentésével pedig az aggregatio is csökkent. Ezen kívül etilén-glikol-bisz(2-aminoetil)-tetraecetsav (EGTA) Ca^{2+} kelátor hatására is csökken az aggregatio mértéke. Az aggregatio összefüggésben van az adenilil-cikláz-cAMP-G-protein rendszerrel is. A Gi fehérje stimulálásával az aggregatio serkenthető, mivel hatására az adenilil-cikláz aktivitása csökken, amivel csökken a cAMP mennyisége, ezáltal az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció megemelkedik. A foszfodiészteráz (PDE) szabályozza az intracelluláris cAMP szintet, így részt vesz a vörösvérsejtek micro-rheológiájának szabályozásában, blokkolásával az aggregatio csökken [38]. Az erythrocyták membránjában számos kináz és foszfatáz található [41,42]. *In vitro* kutatásokban kimutatták, hogy a foszforiláció módosítja a vázfehérjék működését [43]. A protein kináz-A stimulálásával az aggregatio jelentősen csökken, míg protein kináz-C hatására csak kis mértékű csökkenés látható. A Lyn protein tyrozin kináz hatására szintén csökkent aggregatiót találunk, azonban ezt a hatást az inhibitor képes eliminálni [38].



3. ábra

A vörösvérsejtek micro-rheológiai paramétereinek szabályozásában részt vevő jelátviteli útvonalak
 αAR : α -adrenerg receptor; βAR : β -adrenerg receptor; Gi , Gs : heterotrimer GTP kötő proteinek; AC: adenilil-cikláz

(Muravyov és mtsai 2014. alapján [38])

Az aggregatio nagy jelentőséggel bír a keringés különböző szakaszaiban (2.1.2. fejezet). Számottevő aggregatio az átmeneti zónában alakul ki, ezzel létrehozva az axiális migráció jelenségét, amely során a vörösvérsejtek összetömörülve, az érpálya axisa mentén haladnak, ahol ezáltal nagyobb lesz a haematocrit és az áramlási sebesség. Az érpálya szélén az ún. Poiseuille-zóna alakul ki, ami egy sejtszegény terület, kisebb áramlási sebességgel [5,17].

Az aggregatio számos kóros folyamatban emelkedik. Ilyen például az obesitas, diabetes mellitus, amely során az erythrocytákat érő oxidatív stressz jelentősen megemelkedik, csökken az antioxidánsok működése, a membrán fragilitása nő [44]. Különböző cardio-vascularis betegségek, hypertensio, atherosclerosis, stabil és instabil angina, acut myocardialis infarctus, szepszis, malignus tumorok, hyperlipoproteinaemiák, β -thalassaemia során is emelkedett aggregatiót tapasztaltak. A megnövekedett aggregatio hátterében akár genetikai eltérés is állhat, kimutatták, hogy a nitrogén-monoxid szintetáz (NOS) kódoló gén VNTR (változó számú tandem ismétlődés) polimorfizmusa hatással van az aggregatio mértékére. A VNTR-56 és 66 polimorfizmussal rendelkező egyének esetében csökken a disaggregatiohoz szükséges nyírófeszültség küszöbértéke [6,17,44–49]. Grau és mtsai közepesen (2022) súlyos SARS-CoV-2 (súlyos akut légzőszervi szindróma-koronavírus; COVID-19) fertőzött beteg bevonásával végeztek haemorheológiai vizsgálatokat. Megállapították, hogy a betegek vörösvérsejtjei tartósan elongálódtak, membránjukon kitüremkedések, nyúlványok jelentek meg. A vörösvérsejt aggregatiban számottevő változást nem találtak, azonban megfigyelték, hogy magasabb nyíróerő szükséges az aggregatio-disaggregatio egyensúly fenntartásához [50].

2.1.2.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása

Először két fontos fogalmat kell elkülöníteni, ezek az aggregatio és az aggregabilitás. Az aggregatio kifejezés nem csak magát a folyamatot jelenti, de annak mértékének kifejezésére is használjuk. Ebben az esetben a celluláris és plazmatikus befolyásoló tényezők mindegyike érvényesül. Számszerűsíthető dimenzió nélküli paraméterként (pl. aggregációs index), vagy az aggregatumot alkotó vörösvérsejtek számával, leírható a dinamikája az aggregatio képződés idejét vizsgálva (fél-amplitúdó idő), és a képződött aggregatumok erőssége, amennyiben meghatározzuk, hogy mekkora nyíróerő szükséges a disaggregatiohoz. Ezzel ellentétben a vörösvérsejtek aggregabilitása csak abban az esetben vizsgálható, ha a szuszpendáló közeg összetétele pontosan meghatározott (pl. ismert koncentrációjú és molekulatömegű dextrán oldat), így a plazmatikus befolyásoló tényezők hatása kizárható. Ha ez a feltétel teljesül, akkor különböző sejtpopulációk aggregabilitása összehasonlíthatóvá válik a standard környezet alkalmazásának következtében. Az ezzel a minta előkészítési módszerrel végzett mérések során kapott eredmények alapján következtethetünk a sejt belső jellemzőire, mint a membrán mechanikai tulajdonságai, glycocalyx állapota és összetétele, és a sejthalak. A plazmában szuszpendált vörösvérsejtekkel mért paraméterek esetében az aggregabilitás kifejezés nem használható [51].

Az aggregatio mértékének meghatározására különböző módszerek állnak rendelkezésünkre.

Egy aggregatum mérete meghatározható direkt mikroszkópos vizsgálattal azáltal, hogy megszámoljuk az azt alkotó vörösvérsejtek számát [49].

Az egyik első módszer, amivel az aggregatio mértékét vizsgálták, az erythrocyta szedimentációs ráta (ESR). Ennél, a klinikai diagnosztikában napi szinten gyulladásos folyamatok igazolására használt módszernél, a vérmintát 4:1 arányban Na-citrát oldattal keverve vizsgálják, és meghatározott idő (általában 1 óra) elteltével mérik meg a vörösvérsejtek süllyedésének mértékét [26,52].

Elérhetőek ultrahangon alapuló mérőmódszerek, amelyek segítségével lehetőségünk nyílik az aggregatio folyamatát non-invazív módon, *in vivo* vizsgálni [27,31]. Használható röntgen képalkotás, továbbá atomerő mikroszkópia, vagy scanning elektronmikroszkóp (SEM), ami az erythrocyták felszíni töltései által adott elektromos válaszon alapul, mivel az aggregatio során, az alakváltozás következtében, a vörösvérsejtek membránjának határfelületi polarizációja által indukált elektromos válasz megváltozik, ezt a változást láthatjuk a SEM alkalmazásával [53].

A kutatásokban legelterjedtebb módszerek a fény-intenzitás változáson alapuló technikák. A fény-transzmisszió alapuló méréseknél (pl. Myrenne MA-1 aggregometer), a vérmintán áthaladó fény intenzitás változásából következtetünk az aggregatio mértékére. Magasabb aggregatio esetén megnő az átjutó fény mennyisége, mivel a vörösvérsejtek összekapcsolódása miatt a particulumok közötti tér nagyobb lesz ezáltal több fény jut keresztül a mintán [3,4,54]. A fény-reflektancia elvén működő készülékeknél (pl. LoRRca MaxSis Omoscan ektacytometer) a vörösvérsejtekről visszaverődő fény intenzitás változását detektáljuk, majd ebből számítjuk az aggregációs indexet. Ebben az esetben az aggregációs index emelkedésével a detektált fény mennyisége csökken, mivel az aggregátumok kialakulásával a közöttük levő tér megnő, míg a particulumok száma relatíve csökken, így kevesebb lesz az a felület, ami képes a fényt visszaverni [3,6,55].

2.1.2. Vörösvérsejt deformabilitás

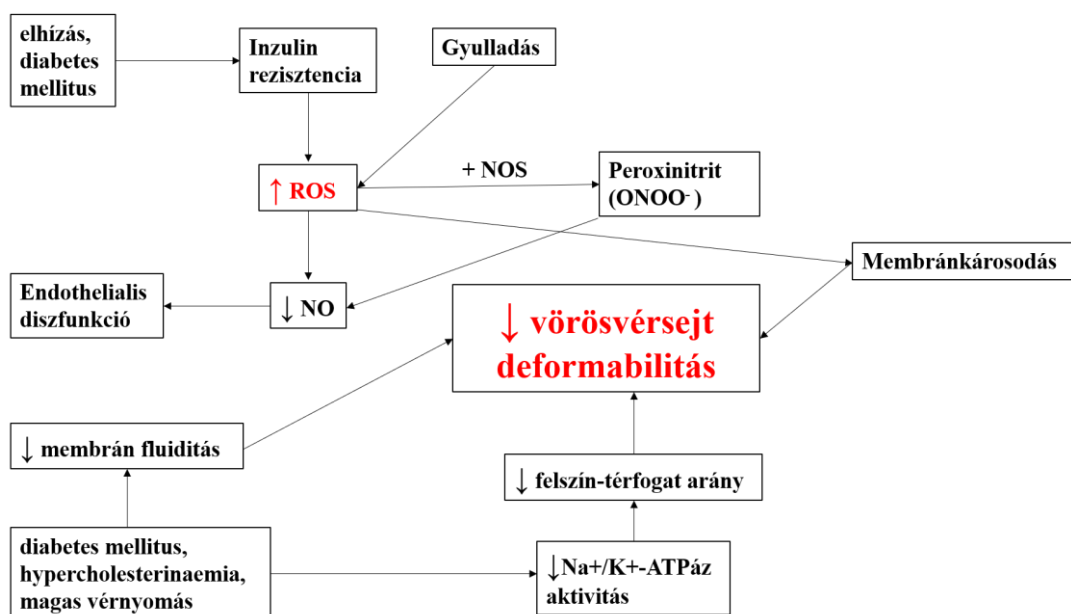
A vörösvérsejtek deformabilitásán a nyíróerő hatására bekövetkező passzív alakváltozásra való képességüket értjük [5,56–58]. A deformabilitás mértéke függ a morfológiai tulajdonságoktól (bikonkáv sejtalak), a sejtfelszín-térfogat aránytól, a sejt abszolút térfogatától, az intracelluláris viszkozitástól (a sejten belüli haemoglobin koncentráció) és a sejtmembrán összetételétől, ami a sejtmembrán saját viszkozitására van

hatással [5,17,18,57,59]. Az említett befolyásoló tényezőkön kívül az ozmotikus környezetnek is jelentős hatása van a sejtek deformálhatóságára, mivel a környezet ozmolalitása kihat a sejtek hidratáltsági állapotára. A legnagyobb fokú deformabilitás a fiziológiás ozmolalitású (kb. 300 mOsm/kg) közegben érhető el. Hypo- illetve hyperozmotikus környezetben a sejtek zsugorodása és duzzadása következtében a felszín-térfogat arány változik, ezáltal deformabilitás romlás következik be [45,57,60].

A vörösvérsejt deformabilitásnak kiemelt szerepe van a keringés egyes szakaszaiban. A tömeges áramlás szakaszában, ahol az érátmérő nagyobb, mint 300 μm , a megfelelő deformálhatóság a teljes vér viszkozitás csökkenését idézi elő, ezzel gyorsítva a véráramlást [5,56,58]. Az átmeneti zóna területén (érátmérő: 8-300 μm) az axiális migráció kialakulásában játszik ez a paraméter fontos szerepet, azonban igazán kulcsfontosságú funkciója az egyenkénti áramlás zónájában van (érátmérő: $<8 \mu\text{m}$), hiszen a vékony kapillárisokon való átjutáshoz nélkülözhetetlen a sejtek alakváltoztatása [5,57].

Ismertek olyan veleszületett, illetve szerzett elváltozások, betegségek, amelyek jelentős deformabilitás romlással járnak. Csökkent deformabilitást találunk minden olyan kórkép esetén, ami a vörösvérsejtek alakváltozásával, így a felszín-térfogat arány felborulásával jár, mint a hereditár vagy szerzett spherocytosis, elliptocytosis, stomatocytosis, sarlósejtes anaemia, a krónikus fáradtság szindróma és a vashiányos állapotok [61–64]. A felszín-térfogat arány fenntartásában kiemelt szerepe van a Na^+/K^+ -ATPáz-nak (nátrium-kálium adenozin trifoszfátáz), mivel segít fenntartani az elektrokémiai gradienst a sejtmembrán két oldalán. Diabetes mellitus, magas vérnyomás, hypercholesterinaemia során csökken a Na^+/K^+ -ATPáz aktivitása a vörösvérsejtekben, így a felszín térfogat arány csökken. Ezen kívül csökken a membrán fluiditása, ami a sejtek rigidebbé válását okozza, ezzel szintén deformabilitás romlást idézve elő [12–16]. A vörösvérsejtek rendkívül érzékenyek az oxidatív stresszre. Hyperglycaemia, más

metabolikus elváltozások, elhízás vagy gyulladásos folyamatok során megemelkedik a reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) mennyisége, ami csökkenti az endotheliális nitrogén-monoxid szintetáz (eNOS) aktivitását, így csökken a nitrogén monoxid (NO) mennyisége, ami endotheliális diszfunkciót okoz. A ROS direkt károsítja a sejtmembránt lipidperoxidáció révén, szulfhidril kötések kialakításával roncsolja a transzmembrán fehérjéket, továbbá káros a haemoglobin molekulákra és a strukturális proteinekre [65]. Amikor NOS és ROS egyszerre vannak jelen, peroxinitrit (ONOO^-) képződik, ami könnyedén áttut a foszfolipid kettős rétegen, és a sejten belül nitrálja a fehérjéket. Ez a protein nitriláció csökkenti az antioxidáns enzimek és az eNOS aktivitását [37,65,66] (4. ábra). Grau és mtsai (2022) leírták, hogy COVID-19 fertőzés esetén a vörösvérsejt deformabilitás jelentősen csökken, amit az emelkedett NOS aktivitás sem tud ellensúlyozni. Ennek hátterében a fokozott oxidatív stressz, valamint a korábban említett morfológiai elváltozások állhatnak [50].

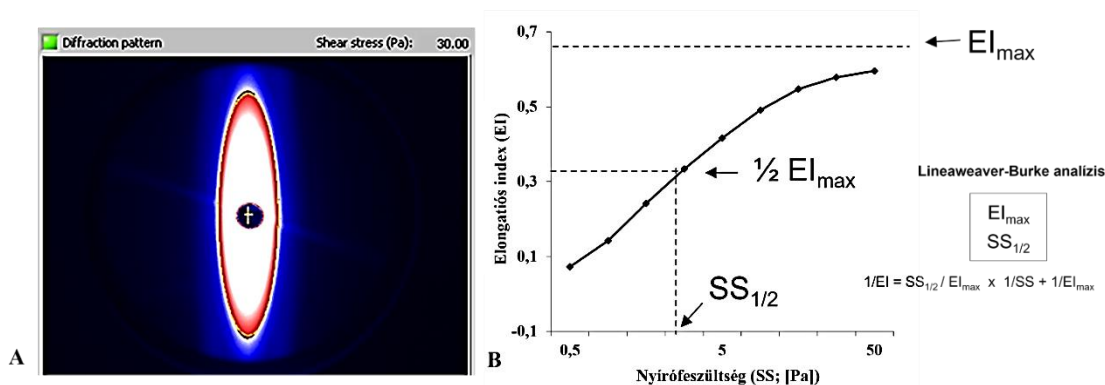


4. ábra

A vörösvérsejt deformabilitás romlást kiváltó folyamatok különböző betegségek vonatkozásában (Németh és mtsai. 2014.; Paneni és mtsai. 2013.; Radosinska és mtsai. 2016. alapján [12,65,66])

2.1.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás meghatározása

A deformabilitás mértékének meghatározására több módszer is elérhető. A legrégebben alkalmazott lehetőségek a filtrációs technikák, ahol meghatározott pórus átmérőjű filteren engedik keresztül az ismert, alacsony haematocrit értékű (általában 5-10%) vörösvérsejt szuszpenziót, majd az átjutási idő segítségével számítják ki a deformabilitás mértékét (pl. Carat FT-1 filtrométer). Később alakultak ki az úgynevezett mikropipettás aspirációs technikák, ahol a sejtek individuálisan vizsgálhatóak. A manapság leginkább elterjedt módszer az ektacytometria, amely során magas viszkozitású médiumban szuszpendálják a mintákat, és ezt a szuszpenziót teszik ki különböző mértékű nyíróerőknek. Ebben az esetben a deformabilitás mértékét a nyíróerő hatására elnyúló sejteken szóródó lézerfény keltette diffrakciós kép segítségével határozzák meg (pl. Rheoscan-D, LoRRca Maxis Omoscan ektacytometer) [2,5,67] (5. ábra).



5. ábra

A LoRRca MaxSis Omoscan ektacytometer által felvett diffrakciós kép (A), és az ez alapján kapott elongációs index értékek értelmezése a nyírófeszültség függvényében (B)
(A Sebészeti Műtéttani Tanszék ábraanyaga alapján)

2.2. Fajok közötti különbségek

Az egyes gerinces fajok között korábbi tanulmányokban már számos macro- és micro-rheológiai különbséget írtak le. Ezek háttérben több tényező állhat. Ilyen a különböző fajok vörösvérsejtjeinek alaki és méretbeli eltérései. Az alakbéli eltérések egyik

fő oka, a sejtmag jelenléte, illetve annak hiánya. A madarak, halak, hüllők, kételtűek magvas vörösvérsejtekkel rendelkeznek, ezáltal ezen sejtek alakja gömbhöz hasonló, ellentétben az emlősökre jellemző sejtmag nélküli bikonkáv formával. A másik oka az alaki különbségeknek az eltérések a citoplazma és a membrán összetételében. Ezek a tényezők, a különböző vörösvérsejtszámokkal, vérplazma összetételekkel, és az egyes fajokra jellemző érgeometriai sajátosságokkal együtt jelentősen befolyásolják a véráramlást [5,17].

A teljes vér viszkozitást számos paraméter befolyásolja, ilyen a haematocrit, a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio, vagy éppen a ozmotikus környezet (fiziológias osmolalitás: humán: 300 mOsm/kg; patkány: ~298 mOsm/kg; kutya: 290-310 mOsm/kg; sertés: ~295 mOsm/kg) [68–70], és a plazma makromolekula összetétele, főként a fibrinogén koncentrációja (humán: 2,65 g/L; patkány: 2,33 g/L; kutya: 1,82 g/L; sertés: 1,72 g/L) [6], ami a plazma viszkozitáson keresztül hatással van a teljes vér viszkozitás mértékére [5,17]. Korábbi tanulmányokban kimutatták, hogy a teljes vér viszkozitás faji különbségeket mutat, például magas nyírófeszültségen (90 mPas, és afölött) mérve humán mintánál 6,0 mPas-ot, patkánynál 6,3; kutyában 5,3; sertés esetén 7,2 mPas átlag viszkozitást mértek [71,72]. Ehhez hasonlóan a plazma viszkozitás esetében is találunk eltérést az egyes fajok között (humán: 1,2 mPas, patkány: 1,0 mPas, kutya és sertés 1,6 mPas) [71,73,74].

A deformabilitást vizsgálva több kutatásban is azt találták, hogy a patkány, illetve a sertés vörösvérsejtjei jobban deformálódnak, mint a kutyáké vagy a juhoké [9,75]. A vörösvérsejt aggregatio mutatja a legnagyobb faji diverzitást. Az aggregatio tekintetében az állatfajokat három csoportba sorolhatjuk: vannak, amelyek vörösvérsejtjei alig aggregálódnak, ilyenek a rágcsálók és juh; a főemlősök és sertés vére jobban aggregálódik, a ló és a macska vére pedig hyperaggregálódik. A leggyakrabban használt kísérleti állatok közül a patkány bír a legalacsonyabb aggregatióval, ezt követi a sertés, majd a kutya [5,10].

2.3. Policisztás ovárium szindróma

A policisztás ovárium szindróma (PCOS) az egyik leggyakoribb endokrin megbetegedés a fogamzóképes nők körében [22–25,76–79], amely során a nemi hormonok egyensúlya zavart szenved, ami a petefészkekben ciszták kialakulásához vezet [80]. Prevalenciája átlagosan 8-12% [22,24,81–84], de ez nagyban függ az alkalmazott diagnosztikai kritériumoktól. Kialakulásának folyamata máig nem teljesen tisztázott, azonban azt már leírták, hogy genetikai, környezeti és életmódbeli faktorok egyaránt szerepet játszanak benne [80,85,86]. A genetikai okokat tekintve több közvetítő gén és útvonal is ismert, amelyeknek mutációi felelősek lehetnek a PCOS kialakulásáért, ilyen a NAD (nikotinamid-adenin-dinukleotid) függő deacetiláz sirtuin-1 (SIRT1) gén, vagy a TGF- β , aminek SNP mutációja és a PCOS kialakulása között koreai nők esetében összefüggést mutattak ki. A TGF- β rs1800469T, rs4803457T allélok és az rs1800469C és rs4803457CC genotípusok pozitív asszociációt mutattak, míg az rs1800469C rs4803457T és az rs1800469T–rs4803457T haplotípusokkal negatív kapcsolatot találtak a PCOS-sel [87]. A betegség családi halmozódást is mutat, többen leírták már, hogy a policisztás ovárium szindrómás nők lányai nagyobb eséllyel szenvednek PCOS-ben, mint az egészséges nők gyermekei [86,88].

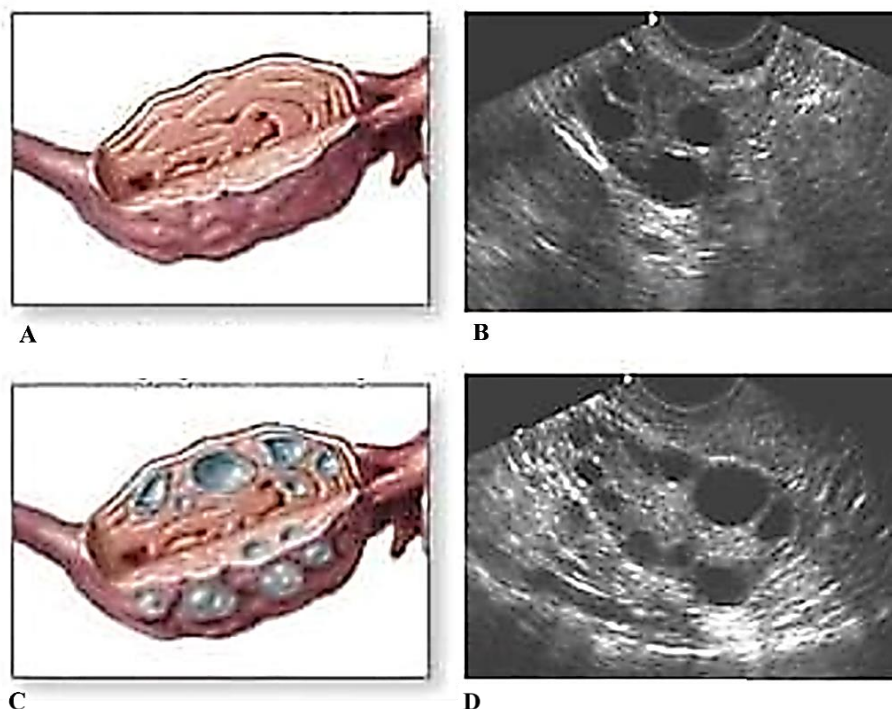
Számos tünettel rendelkezhet, amik egy spektrumot alkotnak, ami így nagy egyéni, illetve rasszok közötti eltérést is mutat (pl. dél-ázsiai, illetve skandináv nők esetében nem jelenik meg olyan kifejezetten a hirsutismus) [80]. Az egyik leggyakoribb tünet a petefészkek diszfunkció, ami okozhat irreguláris menstruációt, vagy amenorrheát [19,21,89,90]. Az amenorrhea lehet primer, amely valamilyen kromoszomális vagy anatómiai okból (pl. ciszta) alakul ki; és szekunder, amelyben a hypothalamus által termelt hormonok szintje zavart, ennek következtében a menstruáció három vagy több hónapig elmarad [80]. Ez utóbbi hátterében a gonadotropin felszabadító hormon (GnRH) szekréciójának zavara áll, ami a

luteinizáló hormon (LH) és a folliculus stimuláló hormon (FSH) elégtelen szintjét eredményezi [80]. A PCOS-es betegeknél általában az LH szint emelkedett, míg az FSH szintje a normál tartományban van [25,76,78]. E két hormon megfelelő regulációja elengedhetetlen a megfelelő menstruációs ciklus fenntartásához [80,91]. Amennyiben az LH-FSH egyensúly felborul, a petesejt vagy nem érik meg, vagy pedig nem tud felszabadulni, ezáltal a ciklus leáll [80].

A magas androgén szint egy másik jellemző tünete a PCOS-nek [19–21,76–79,89,90]. A hyperandrogenismusnál két típust különíthetünk el, ezek a klinikai hyperandrogenismus, amely többek között hirsutismusban vagy alopeciában nyilvánul meg; és a biokémiai hyperandrogenismus, amelyben a keringő androgének szintjében áll be változás [19]. Fiziológias esetben a női szervezetben a petefészkek és a mellékvesék egyenlő mértékben termelnek tesztoszteront, ami a keringő tesztoszteron szint körülbelül felét fedezi, míg a másik fele a keringő androsztendion (amit szintén a petefészkek és a mellékvese termel) perifériás átalakulásából származik. Az androgének azonban nem csak az ösztrogén szintézis közti termékei, hatással vannak a tüszőkérésére is. A normál petefészkek működéséhez szükséges, hogy az androgén szekréció összhangban legyen az ösztrogén termeléssel, mindkettőnek optimálisan kell működnie a megfelelő ovulációhoz. Ezek működése nagyban függ az LH és FSH koncentrációtól [78]. A fent említett hormonok termelése, szabályozása a hypothalamus-hypophysis-ovarium tengely mentén zajlik. A hypothalamus által termelt GnRH serkenti a hypophysisben az LH és FSH termelését. Az LH stimulálja a theca sejteket, amelyekben megnő a tesztoszteron termelés, ami az FSH által serkentett granulosa sejtekben alakul át ösztrogénné. Ezen kívül az LH nagyfokú megemelkedése a ciklus közepén (LH csúcs) váltja ki az ovulációt, ami további fokozatos FSH emelkedést idéz elő. A termelődő ösztrogén a ciklus nagy részében negatív feedback mechanizmussal hat az LH, FSH és GnRH termelésre, azonban a ciklus közepén (12-14. nap) pozitív visszacsatolást idéz elő,

így tovább emelve a luteinizáló és a folliculus stimuláló hormonok szintjét, ezzel idézve elő az LH csúcsot [78,91]. Megemelkedett androgén szinteket azonban nem csak a hormonális szabályozás felborulása idézhet elő, előfordul, hogy a petefészekben jelen levő ciszták termelnek androgéneket, így okozva elférfiasodó megjelenést, amelynek jelei például a növekvő testsúly, a hasi elhízás, erősödő szőrnövekedés az arcon és a test egész területén, valamint a férfiakra jellemző kopaszodás és a hang elmélyülése [80].

A betegség harmadik nagyon jellemző tünete a petefészkekben megjelenő ciszták (6. ábra) [19–21,76–80,89,90]. A peteérés folyamán az ún. „szunnyadó” petesejtekből először elsődleges tüszők, majd érett tüszők lesznek. Ezek az érett tüszők folyadékkal telt üregek, amelyekből a tüszőrepedés során szabadul fel a petesejt, elősegítve ezzel a későbbi megtermékenyítést, a hátramaradó tüszőburok pedig sárgatestté, majd fehértestté alakul és felszívódik. Amennyiben a tüsző nem tud megrepedni és a petesejt nem jut ki, az érett tüsző cisztává alakul. Ezeket nevezzük „funkcionális” cisztának. Ha az ovuláció elmarad, amenorrhea lép fel. Abban az esetben, ha sok ilyen ciszta alakul ki, policisztás ováriumokról beszélhetünk. Egy-egy ciszta átmérője 10 mm is lehet, így nem ritka az ováriumok megnövekedése sem, ami így elérheti akár a 10 cm-es átmérőt is [80].



6. ábra
Az egészséges (A, B) és policisztás petefészkek (C, D) sematikus és ultrahangos képe
(Kavitha és mtsai. 2017. alapján [77])

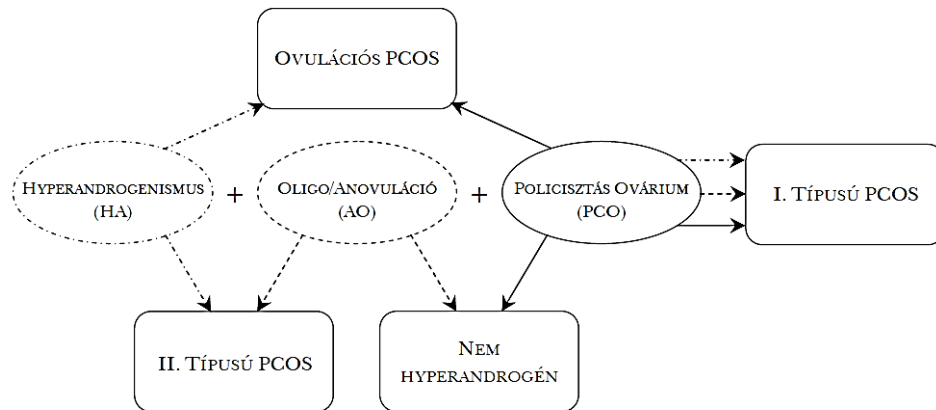
A három fő tüneten kívül számos más elváltozás is megjelenhet. A PCOS-ben szenvedő betegek nagy része túlsúlyos, sok betegnél alakul ki II-típusú cukorbetegség (aminek első jelei lehetnek a cukor utáni erős vágy és a fokozott vizeletürítés), inzulin rezisztencia (IR), aknék, magas vérnyomás, továbbá egyéb kardiovaszkuláris elváltozásokra fokozottan hajlamosak, előfordul kismencedei fájdalom, hányinger, hányás, alvási apnoe [19–21,80,92]. A policisztás petefészkekkel rendelkező betegeknél megnő a méh daganatos elváltozásainak lehetősége, ami az ovariális diszfunkció miatt kialakuló endometriális hyperplasia talaján alakulhat ki [80]. A teherbeesés nehézkes, gyakran csak *in vitro* fertilizációs (IVF) eljárással érhető el, és gyakoriak a vetélések, illetve a kis születési súlyú csecsemők [77,80]. Kimutatták, hogy PCOS-ben megemelkedik a reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) mennyisége a méh és petefészkek szövetében, ami növeli a szervezetet ért oxidatív stresszt [93]. A ROS a korábban leírt módon képes membránkárosítás által rontani mind a deformabilitáson, mind pedig az aggregáción.

Nem csak fizikai, de pszichológiai szimptómák is megjelenhetnek, ezek háttérében állhat maga a hormonális egyensúly felborulása, ilyenkor beszélünk elsődleges pszichés tünetekről, míg a másodlagos tüneteket a nőiség megélésének veszélyeztetettsége idézi elő (pl. infertilitás, férfias szőrnövekedés), ilyenek a szorongás, depressziós epizódok, akár major vagy bipoláris depresszió is [94,95].

Diagnózisának standardizálásában az első jelentős lépést a NIH (National Institutes of Health) konszenzusa jelentette, amely inkább többségi vélemény alapján alkotott diagnózis kritériumokat, mintsem a klinikai bizonyítékokra alapozott. Ezt váltotta fel a 2003-ban tartott rotterdami konszenzuson felállított kritérium rendszer. A Rotterdam kritériumok kimondják, hogy a három gyakori tünet (irreguláris menstruáció, hyperandrogenismus, policisztás petefészkek) közül a diagnózis felállításához legalább kettő megléte szükséges [19–21]. A kivizsgálás előtt fontos kizárni egyéb betegségek meglétét, amik például okozhatnak hyperandrogenismust, mint a Cushing-szindróma, a veleszületett mellékvese megnagyobbodás vagy az androgén termelő tumorok. Az oligo- illetve amenorrhea esetén szérumban FSH és ösztrogén szintek mérésével kizárható a hypogonadotróp hypogonadismus, és a korai petefészkek kimerülés (amit magas FSH és alacsony ösztrogén szint jelez) [19]. A policisztás morfológia igazolására ultrahangos vizsgálat használható. Amennyiben 12 vagy annál több, 2-9 mm átmérőjű folliculust, vagy jelentősen megnőtt petefészkek térfogatot látunk (>10 mL), akkor jelenthető ki a policisztás petefészkek szindróma kialakulása. Fontos megjegyezni, hogy az orális fogamzásgátlót szedő nők esetében ez a morfológiai vizsgálat nem alkalmazható, mivel az ezen készítmények módosítják az ováriumok szerkezetét [19].

A diagnosztikai kritériumok alapján négy PCOS fenotípust különíthetünk el (7. ábra). Az első, klasszikus fenotípus esetén mindhárom feltétel teljesül (oligo/anovuláció, hyperandrogenismus, policisztás petefészkek). A második esetén hyperandrogenismus és oligo- vagy amenorrhea, a harmadiknál (ovulációs PCOS) androgén többlet és policisztás

petefészek, míg a negyediknél (nem hyperandrogén PCOS) oligo- vagy amenorrhea és policisztás ováriumok állnak fenn [78,81,94,96].



7. ábra
A policisztás ovárium szindróma fenotípusai
(Mohácsi és mtsai. 2015. [94])

A terápiás célok első sorban a menstruációs ciklus helyreállítása, a hyperandrogenismus tüneteinek kezelése, a szénhidrát anyagcserét érintő elváltozások, valamint az esetlegesen fellépő infertilitás kezelése [83]. A terápiás megoldások az életmódbeli változtatásokon keresztül, farmakológiai módszereken át, a sebészeti eljárásokig terjednek. A PCOS-re jellemző „funkcionális” ciszták maguktól is képesek felszívódni, azonban előfordulhat a megrepedésük, vérzésük, ami hirtelen jelentkező, erős alhasi fájdalmat okoz [80].

A nem farmakológiai módszerek között szerepel az étrend megváltoztatása, illetve a rendszeres testmozgás bevezetése, ami a testtömeg csökkentésével segít az inzulin rezisztencián, javítja a menstruációs funkciót és ezáltal emeli a sikeres terhességek arányát [77].

A farmakológiai módszerek esetében a hyperandrogenismus és a rendszertelen menstruáció kezelésére orális fogamzásgátlók alkalmazhatók, amennyiben nem a fogamzókéesség növelése a terápia fő célja [77,97]. A metformin szintén alkalmas a

hyperandrogenismus csökkentésére, alacsony dózisú anti-androgénnel kombinálva, mivel hatására csökken a szabad tesztoszteron és androsztendion szint, valamint emeli a szexhormon kötő globulin (SHBG) mennyiségét [77,80,98]. Ezen kívül jól használható az inzulin rezisztencia kezelésében, hiszen fokozza az inzulinérzékenységet, de a hirsutizmus, az aknéképződés mértékét is csökkenti, és ovuláció indukálásra is alkalmazható klomiphén-citrát kezelés kiegészítéseként [77,80,97]. A klomiphén-citrát egy szelektív ösztrogén-receptor modulátor, amelynek gátló hatása van az ösztrogén negatív feedback mechanizmusára, ez által emelve az FSH és normalizálva az LH szintet, ezzel idézve elő ovulációt, az *in vitro* fertilizációs eljárások során ez a leggyakrabban használt peteérést elősegítő készítmény [97]. Ovuláció indukcióra alkalmazható még letrozole terápia, amelyet elsősorban mellrák kezelésére használnak, de peteérést stimuláló hatása is ismert [80,97].

Amennyiben a ciszták a kezelések hatására pár hónapon belül nem szívódnak fel, akkor sebészileg kell őket eltávolítani. Erre alkalmas módszer például az úgynevezett laparoszkópos petefészek drilling, nagyobb ciszták esetében pedig laparotómiás beavatkozás végezhető. Súlyos esetekben akár a teljes petefészek és méh eltávolítására is sor kerülhet [80].

2.3.1. Policisztás ovárium szindróma kísérletes modellek

A szakirodalomban számos állatmodellt találhatunk a PCOS vizsgálatára. Patkányoknál indukálható folyamatos fénnel (24 órás megvilágítás), vagy krónikus hideggel történő kezeléssel [99,100]. Elérhetőek transzgén állatok [99], azonban a leggyakrabban alkalmazott protokollokban, valamilyen hormon kezeléssel generálják a betegséget. Használnak androgéneket, mint a tesztoszteron [101–104], a dehidroepiandroszteron (DHEA) [105–108], vagy a dihidrotesztoszteron (DHT) [109–113], ismertek aromatáz inhibitort (pl. letrozole) [114–116], progeszteron receptor antagonistát

(pl. a mifepristone) [117], és ösztrogént alkalmazó (pl. ösztradiol valerátot (EV)) modellek is [114,118,119]. Az alkalmazható kezelések nemi hormonszintekre gyakorolt hatását az I. táblázat foglalja össze.

A különböző modelleket az orvosbiológiai kutatások számtalan területén alkalmazták és különböző elváltozásokat írtak le. Ösztradiol-valerát indukálta modellben ovárium szövettani vizsgálatánál csökkent mennyiségű, de nagyobb méretű sárgatesteket, cisztás folliculusokat találtak [120–123]. A máj vizsgálatánál Mohammadi és mtsai (2017) szöveti nekrozist és hyperaemiát, emelkedett kollagén expressziót mutattak ki [124]. Tesztoszteron alkalmazása esetén emelkedett testtömeget, cisztás folliculusokat, a sárgatest hiányát [102,125], emelkedett LH és tesztoszteron szinteket, a májban lipid cseppeket [103,104] írtak le. DHEA kezelés hatására megemelkedett tesztoszteron, ösztradiol, LH/FSH arányt mutattak ki, az ovariumban cisztás folliculusokat, megemelkedett fibrin és kollagén szinteket, a sárgatestek hiányát figyelték meg [106,107]. Wu és mtsai metformin és pioglitazone kombinációját alkalmazták EV indukált PCOS patkánymodellben. Megállapították, hogy a kezelés gátolta a tesztoszteron szint emelkedését, elősegítette az ovulációt, csökkentette a cisztás folliculusok számát, gátolta az inzulin szint emelkedését [126].

Különböző kutató csoportok különféle alternatív kezeléseket is alkalmaztak. Ghafurniyan és mtsai (2015) zöld tea extraktummal kezelték EV indukált PCOS-es patkányokat. A kezelés hatására a cisztás folliculusok számának szignifikáns csökkenését tapasztalták [123]. Reddy és mtsai (2016) letrozole indukált PCOS patkány modellben vizsgálták a kurkumin jótékony hatásait. A kurkumin normalizálta a szérum lipid szinteket, valamint elősegítette a sárgatestek megjelenését, ezáltal megszüntette az amenorrhéát [115]. Tanulmány készült a hagyományos kínai orvoslásban használt Heqisan hatásáról DHEA indukált PCOS patkány modellben. A Heqisan normalizálta a hormonszinteket, valamint

hatására javulást tapasztaltak az inzulin rezisztenciában is [105]. Masszi és mtsai (2013) DHT indukálta PCOS patkánymodellben vizsgálták a különböző vazoaktív ágensekre adott vaszkuláris választ, valamint, hogy a D-vitamin terápia milyen módon képes ezt befolyásolni. Eredményeik alapján a DHT hatására a noradrenalin okozta vazokonstriktió emelkedett, ami a D-vitamin terápia hatására csökkent. Az aorta vazorelaxációja DHT hatására csökkent, azonban ezt a D-vitamin részben helyreállította [113]. Zhang és mtsai (2019) a vetélés és halva születés problémakörét vizsgálták. Vemhes patkányoknál idéztek elő androgén többletet, DHT kezelés alkalmazásával, valamint inzulin rezisztenciát idéztek elő, és vizsgálták a magzati túlélést [93]. A kontroll állatoknál az élve született utódok száma jelentősen csökkent. Ezen kívül a hyperandrogén állatokban emelkedett ROS produkciót mutattak ki a petefészkekben. Másik csoportjuk esetében N-acetil-cisztein (NAC) kezelést alkalmaztak, hatására emelkedett az alom egyedszáma, valamint az élve született patkányok aránya [93].

Kísérletes PCOS állatmodell rheológiai vizsgálatára vonatkozó adatokat nem találtunk.

I.táblázat: Az egyes kezelések nemi hormonszintekre gyakorolt hatása (Osuka és mtsai 2018., Shi és Vine 2012., Paixão és mtsai 2017. alapján [99,127,128])

Alkalmazott kezelés	Hormon			
	Tesztoszteron	LH	FSH	LH/FSH arány
Tesztoszteron	↑, →	↑	↑, ↓, →	↑
DHEA	↑, →	↑, →	↑, →	↑
DHT	↑, →	→	N.A.	N.A.
Ösztradiol-valerát	↑, ↓	↑, ↓	↓, →	N.A.
Letrozole	↑	↑	↑, →	N.A.
Mifepristone	↑	↑	↓	N.A.
Konstans fény	↓, →	→	↓	N.A.

↑= emelkedett, ↓=csökkent, →=nem változott, N.A.=nincs adat

3. CÉLKITŰZÉS

1. Célul tűztük ki az egyes fajok (humán, patkány, kutya és sertés) fiziológiás haematocrit mellett mért aggregációjának összehasonlítását.
2. A kérdéskört tovább vizsgálva célunk volt különböző mérőmódszerek segítségével meghatározható aggregációs paraméterek (statikus és kinetikus) összehasonlítása különböző haematocrit értékre beállított vérmintákat alkalmazva, és azok fajok közötti különbségeinek feltárása.
3. Kérdésként merült fel, hogy mely paraméterek lehetnek hasznosak az aggregációhoz „optimális” haematocrit tartomány meghatározásához, és hogy ezen értékek fajok között mutatnak-e diverzitást.
4. Célunk volt egy haemorheológiai vizsgálatokhoz alkalmazható PCOS patkány modell beállítása.
5. A beállított modellen egy átfogó haematológiai és haemorheológiai vizsgálat elvégzése, kifejezetten a PCOS vörösvérsejt aggregációra kifejtett hatásának vizsgálata.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában

4.1.1. Kísérleti állatok és humán mintavétel

Az állatkísérletet a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága (DEMÁB) regisztrálta az állatkísérletekről szóló EU-irányelv (63/2010 EU-irányelv) és a magyar állatvédelmi törvény (1998. évi XXVIII. törvény „Az állatok védelméről és kíméletéről”) figyelembevételével (engedély regisztrációs számok: 13/2014/DEMÁB; 7/2014/DEMÁB; 24/2016/DEMÁB). A humán vérmintákat önkéntesektől kaptuk, méréseinket a Debreceni Egyetem Regionális Kutatásetikai Bizottság engedélyével végeztük (engedély szám: DE-RKEB 3189-2010).

A vérmintáinkat 6 Wistar hím patkányból (testtömeg: 353 ± 80 g; kor: 6 hónap; érzéstelenítés: 60 mg/kg thiopenthal [Tiobarbital Braun 1g; B. Braun, Melsungen, Németország], intraperitonealisan; mintavételi hely: vena cava caudalis); 6 hím Beagle kutyából (testtömeg: $18,05 \pm 2,05$ kg; kor: 3 év; érzéstelenítés: 10 mg/kg ketamin [CP-Ketamin hidroklorid 10%, Produlab Pharma BV, Hollandia] + 1 mg/kg xilazin [CP-Xylazin-hidroklorid, 2%; Produlab Pharma BV, Hollandia] + 0,25 mg/kg diazepam (Seduxen, 0,5%, Richter Gedeon Nyrt., intramuscularisan; mintavételi hely: vena cephalica); és 7 Hungahib-39 nőtény sertésből (testtömeg: $15,26 \pm 1,02$ kg; kor: 3 hónap; érzéstelenítés: 15 mg/kg ketamin + 1 mg/kg xilazin, intramuscularisan; mintavételi hely: vena saphena) vettük, K3-EDTA-t tartalmazó vérvételi csövekbe (1,8 mg/mL; BD Vacutainer® Becton, Dickinson and Company, USA).

Humán vérmintáinkat 7 egészséges, férfi önkéntes szolgáltatva (átlagéletkor: 29 ± 6 év). A vérvétel a vena mediana cubiti punctiojával történt, zárt vérvételi rendszerben, 21G

átmérőjű tű használatával, K3-EDTA tartalmú vérvételi csövekbe. A laboratóriumi méréseket a vérvételtől számított 4 órán belül végeztük el.

4.1.2. Minta előkészítés

A vérmintákat centrifugáltuk (3000 rpm, 10 perc), a plazmát félretettük, és a „buffy coat”-ot eltávolítottuk. Ezt követően a vörösvérsejt-szuszpenziót PBS oldattal 1:1 arányban hígítottuk. Ismét centrifugáltuk (3000 rpm, 10 perc), majd eltávolítottuk a felülúszót, és ezt a mosási lépést még egyszer megismételtük.

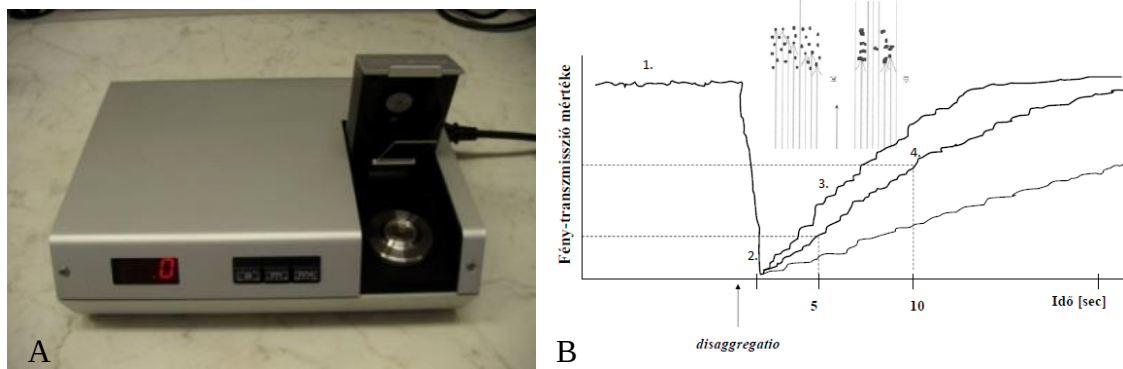
Meghatároztuk a vörösvérsejt szuszpenzió haematocrit értékét (Sysmex F-800 és Sysmex K-4500, TOA Medical Electronics Corp. Ltd., Japán), és ennek ismeretében elkészítettük a 20, 40, 60%-os vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenzióinkat.

4.1.3. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása

5.1.3.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-transzmissziós elven

A fény-transzmisszió alapuló mérőmódszerek közül a Myrenne MA-1 aggregometert alkalmaztuk (Myrenne GmbH, Németország) (8. ábra). A méréshez 20 μ L antikoagulált vérre van szükség, amelyet egy 2° -os szögben csiszolt, rotor segítségével forgatható üveglencsére viszünk fel. A készülék fedelét lecsukva egy üveg lemez elteríti a mintát az üveglencsén, majd a lencse forgó mozgásával 500 s^{-1} sebesség-grádienst generál, amivel az esetlegesen jelenlevő aggregátumok disaggregálódnak. Ezt követően a készülék négy aggregációs index paraméter meghatározására képes, ezek az M 5sec, M1 5sec, M 10sec és M1 10sec paraméterek. Az M 5 sec és M 10sec esetében a disaggregációt követően a lencse forgása teljesen megáll (stasis), és ebben az állapotban méri az áteresztett fény intenzitását az aggregációs folyamat 5., illetve 10. másodpercében. Az M1 5sec és M1 10sec paraméterek esetén a lencse mozgása nem áll meg teljesen, csak lelassul (3 s^{-1}). A

transzmittált fény intenzitását a lencse alatt található infravörös detektor méri. A fényforrás a készülék fedelében, az üveglemez mögött található. A készülék nem temperált, a méréseket szobahőmérsékleten (22-25 °C) végeztük. Minden paraméter esetében 4 mérés történt, ezek átlagával dolgoztunk tovább [3–6,67,129].

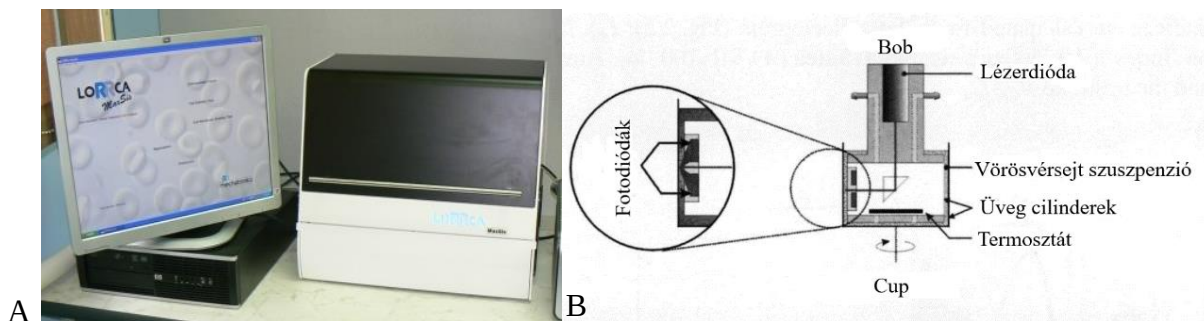


8. ábra
A Myrenne MA-1 aggregométer (A) és működési elve (B)
(Sebészeti Műtéttani Tanszék fénykép- és ábraanyaga)

4.1.3.2. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-reflektancián alapuló módszerrel

Fény-reflektancián alapuló méréseinket a LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometerrel végeztük (Mechatronics BV, Hollandia) (9. ábra). A Myrenne MA-1 aggregometerrel ellentétben, 700-1000 uL antikoagulált teljes vérre van szükség a méréshez. A készülék Couette-rendszerben mér, ami egy statikus hengerből (bob) és egy forgatható hengerköpenyből (cup) áll. A vérmintát a két henger között található 0,3 mm-es résbe juttatjuk be. A mérés első fázisa ebben az esetben is a disaggregatio, amit a hengerköpeny forgatásával generált sebesség-grádiens (600 s^{-1}) segítségével érünk el, majd a készülék 120 mp-en keresztül rögzíti a visszavert fény intenzitásában bekövetkező változásokat. A fényforrás (670 nm) és a detektor is a bobba beépítve található. A LoRRca készülék nem csak az aggregatio korai, gyors fázisáról (rouleaux képződés, 5-15mp), hanem a teljes aggregatiós folyamatról szolgáltat adatokat. A mérés során kapott adatokból több paramétert

is kiszámol a készülék, ezek az aggregációs index (AI, [%]), az amplitúdó (Amp, [au]), és a fél-amplitúdó idő ($t_{1/2}$, [s]) [3,6,129].



9. ábra
A LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer (A) és aggregatio mérésének működési elve (B)
(Sebészeti Műtéttani Tanszék fénykép- és ábraanyaga)

4.1.4. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéseket a SigmaStat program segítségével végeztük (Systat Software Inc., San Jose, California, USA). Az adatok eloszlásától függően Student t-próbát, Mann-Whitney és ANOVA tesztekkel használtunk. Statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értékeket tekintettük.

Az adatok átlag $\pm$ S.D., valamint box and whiskers formában ábrázoltuk. Utóbbi tartalmazza a mediánt, 25% és 75% percentiliseket, valamint a hibasávok jelzik a maximum és minimum értékeket.

4.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a micro-rheológiai paraméterekre

4.2.1. Kísérleti állatok, kezelési és mintavételi protokoll

A szükséges engedélyek birtokában (engedély regisztrációs száma: 17/2019/DEMÁB) a kutatásba 18 Wistar, 3 hónapos, nőstény patkányt vontunk be. Az állatokat véletlenszerűen két csoportba osztottuk ($n=9$ /csoport), így kontroll csoportra

(testtömeg: $291,6 \pm 20,6$ g) és a PCOS csoportra (testtömeg: $264,5 \pm 25,1$ g). A kontroll csoport semmilyen kezelésben nem részesült. A PCOS csoport, az alap vérvételt követően, 4 mg/állat ösztradiol-valerátot (Estradiol valerate, Y0000046, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) kapott 0,5 mL szezám olajban oldva (Sesame oil, S3547, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), subcutan injekció formájában (10. ábra). Vervételek történtek a kezelés előtt, majd azt követően havonta, a lateralis farokvéna punctiojával, 26G-s kanül (Becton, Dickinson and Company, USA) használatával, K3-EDTA tartalmú csövekbe, altatásban, ketamin-xilazine-atropin keverékével (100 mg/kg, CP-Ketamin hidroklorid 10%, Produlab Pharma BV, Hollandia; 10 mg/kg, CP-Xylazin-hidroklorid, 2%; Produlab Pharma BV, Hollandia 0.05 mg/ttkg, atropinum sulfuricum 0.1%, Egis Pharmaceuticals PLC, Budapest, Magyarország).



10. ábra
Az állatok hormonkezelésének folyamata
(Sebészeti Műtéttani Tanszék fényképanyaga)

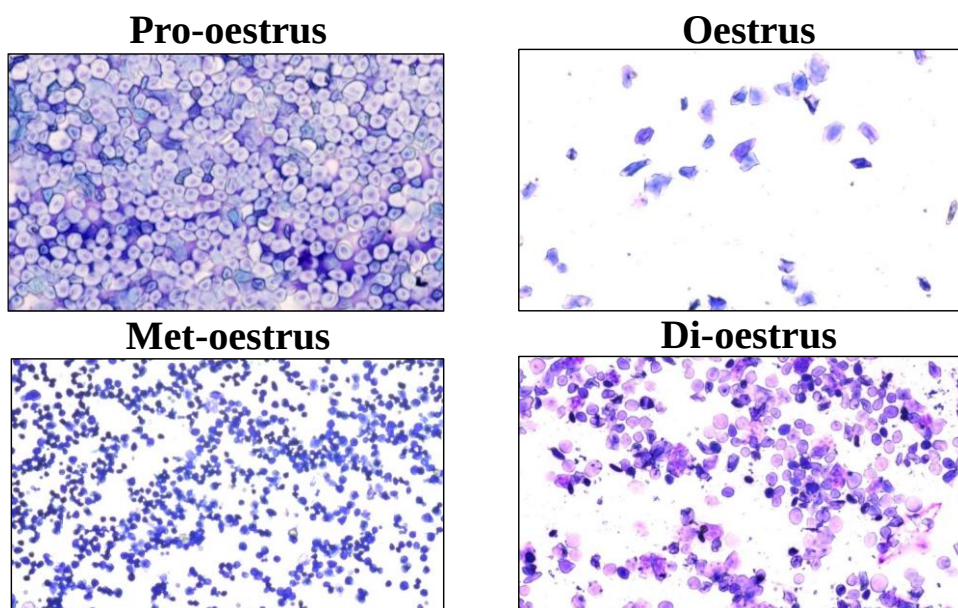
4.2.2. Oestrus ciklus meghatározás

Az állatok oestrus ciklusának ellenőrzését hüvelykenetek mikroszkópos vizsgálatával végeztük. A kísérlet megkezdése előtt, majd havonta, 5 egymást követő napon vettünk az állatoktól mintát lavage technikával [130,131], szűrős pipettahegyet és 250-500 μ L desztillált vizet használva (11. ábra). A keneteket egy éjszakán át, szobahőmérsékleten szárítottuk, majd módosított Giemsa protokoll szerint festettük [132]. A keneteket

metanolban (Methanol Technical, 20903, VWR International, USA) fél percig fixáltuk, majd Giemsa festékkal (PanReac AppliChem Giemsa's Azur-Eosin-Methylene Blue solution, 251338, ITW Reagents) 1 percig festettük, desztillált vízzel mostuk, és egy éjszakán át szobahőmérsékleten szárítottuk. A kiértékelés fénymikroszkóppal (Nikon Eclipse E200, Nikon Europe BV, Hollandia) történt (12. ábra).



11. ábra
Hüvelykenet mintavétel
(Sebészeti Műtétani Tanszék fényképanyaga)



12. ábra
A oestrus ciklus fázisainak mikroszkópos képe
(Sebészeti Műtétani Tanszék fényképanyaga)

4.2.3. Laboratóriumi mérések

4.2.3.1. Testtömeg és vércukorszint meghatározás

Hetente mértük az állatok testtömegét, és vércukorszintjét (AccuCheck Active vércukormérő, Roche Diabetes Care GmbH, Németország) (13. ábra). A kísérlet 120. napján orális glükóz tolerancia tesztet (OGTT) végeztünk, az alábbiak szerint: 12 órás éheztetés után 2 g/ttkg glükózt [133,134] 1,5 ml desztillált vízben oldottunk, és gavage technikával megettettük az állatokkal. A vércukorszintet (mmol/L) 6 különböző időpontban (a glükóz beadása előtt és 15, 30, 60, 90, 120 perccel azután) mértük.

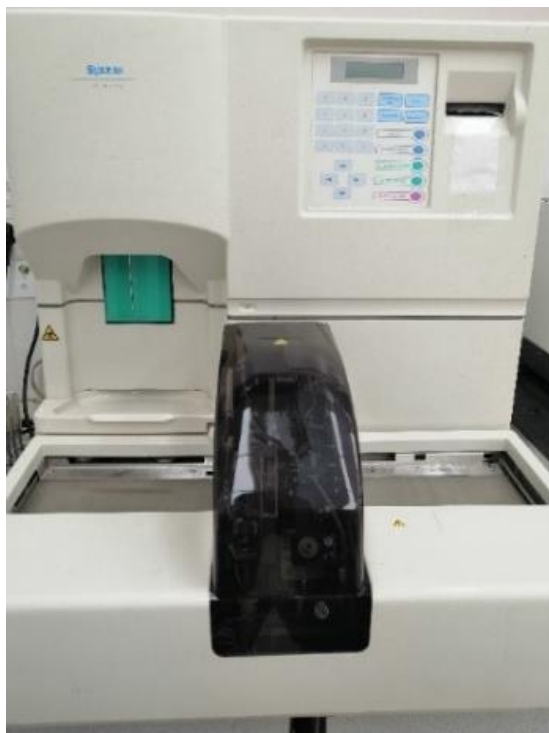


13. ábra
Vércukorszint mérés patkánynál
(A Sebészeti Műtéttani Tanszék fényképanyagából)

4.2.3.2. Haematologiai paraméterek meghatározása

A kvantitatív és kvalitatív haematologiai paramétereket a Sysmex K-4500 haematologiai automatával határoztuk meg (14. ábra). A készülék apertura-impedancia elven határozza meg a fehérvérsejtszámot (Fvs, [$\times 10^9/L$]), vörösvérsejtszámot (Vvs, [$\times 10^{12}/L$]) és a thrombocyta számot (Thr, [$\times 10^9/L$]), míg spektrofotometriás elven méri a hemoglobin tartalmat (Hgb, [g/dL]). Ezen mért adatokból kalkulálja ki a haematocrit (Hct,

[%]), az átlagos vörösvérsejt térfogat (MCV, [fL]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (MCH, [pg]) és az átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (MCHC, [g/dL]) értékeket. A mérésekhez 80 uL antikoagulált vérre van szükség.



14. ábra
Sysmex K-4500 haematologiai automata
(Sebészeti Műtéttani Tanszék fényképanyaga)

4.2.3.3. Haemorheologiai paraméterek meghatározása

A vörösvérsejt aggregatio méréseket a 4.1.3.1. fejezetben leírt Myrenne MA-1 aggregometerrel végeztük.

A vörösvérsejt deformabilitást a LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer segítségével mértük. A méréshez 10uL teljes vért szuszpendálunk 2 mL PVP oldatban (Polyvinyl-pyrrolidone: 360 kDa Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA, pH=7,0-7,2; ozmolalitás: 294-295 mOsm/kg; viszkozitás=25.2-28.0 mPas). A 4.1.3.2. fejezetben ismertetett Couette rendszerbe juttatjuk be a szuszpenziót, majd a cup forgásával 0,3-30 Pa nyírófeszültséget fejtünk ki a mintára. A mérés során a készülék a mintát átvilágítja a 670nm-

es lézerfényvel, a keletkező diffrakciós mintázatokat CCD kamera rögzíti. A diffrakciós képek szélességéből (W) és hosszából (L) számolja a szoftver az elongációs indexet (EI), ami a deformabilitást leíró dimenzió nélküli érték, az $(L-W) / (L+W)$ képlet segítségével. A deformabilitás mérés során a kapott EI értékeket az alkalmazott nyírófeszültség (SS, shear stress, [Pa]) függvényében ábrázoljuk. A kapott görbe parametrizálásával több más paraméter is meghatározható, ilyen a maximális elongációs index (EI_{max}), az ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ($SS_{1/2}$, [Pa]), és ezen két paraméter hányadosa ($EI_{max}/SS_{1/2}$). A parametrizáláshoz a Linewaver-Burke egyenletet használjuk, ami $1/EI = SS_{1/2}/EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$ [5,67,135].

4.2.3.4. Hormonszint mérések

A PCOS kialakulásának igazolására ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) módszerrel hormonméréseket végeztünk (LH, FSH, tesztoszteron, IBL International GmbH, Németország). Az LH és FSH szint meghatározása szilárd fázisú szendvics ELISA-t használtunk, ahol a 96 lyukú mikrolemez felületén anti-LH, illetve anti-FSH antitestek találhatóak. A mintákat torna-peroxidáz enzimmal konjugált antitestekkel inkubáltuk 30 percre, majd lemostuk a nem kötődött konjugátumokat, és hozzáadtuk a szubsztrátot a reakcióhoz. A tesztoszteron mérések kompetitív ELISA módszerrel történtek. Az ismeretlen tesztoszteron koncentrációjú minták és meghatározott mennyiségű, enzimmal jelölt antigénnel „versengtek” a lyukak felületén található antitestek kötőhelyeiért. Egy óra inkubáció után a lemezt mostuk, leállítva ezzel a reakciót, majd hozzáadtuk a szubsztrátot. Mindkét módszer végén, a színintenzitást ELISA microplate olvasó készülék (Tecan Infinite M200, Tecan Trading AG, Svájc) segítségével mértük, majd a standard görbénket használva kiszámítottuk az egyes minták hormon koncentrációját.

4.2.4. Szövettani vizsgálatok

A kísérlet végén, a petefészkeken szövettani vizsgálatot végeztünk. Az állatokat háromszoros dózis altató (300 mg/ttkg, ketamin-hidroklorid 10%; 30 mg/ttkg, xilazin-hidroklorid) beadását követően termináltuk. A petefészkeket 10%-os neutrális formaldehidben fixáltuk (Leica Biosystems Inc., Leider Lane Buffalo Grove, IL, USA), majd paraffinba ágyztuk. 6 µm-es szeleteket készítettünk, és hematoxin-eozin festéssel festettük (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). A tüszők, a sárgatestek és a cisztás tüszők számát minden patkány petefészkében 10x nagyítás mellett határoztuk meg.

4.2.5. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéseket a SigmaStat program segítségével végeztük (Systat Software Inc., San Jose, California, USA). Az adatok eloszlásától függően csoportokon belül páros t-tesztet és Wilcoxon tesztet, csoportok közötti összehasonlításhoz Student-féle t-próbát és Mann-Whitney tesztet használtunk. Statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értékeket tekintettük.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában

5.1.1. Haematologiai paraméterek

A minták haematologiai eredményeit vizsgálva megállapítható, hogy az elkészült szuszpenziók haematocrit értékeinek beállítása sikeres volt. A vörösvérsejtek mérete és denzitása nem változott szignifikánsan, kivéve a sertés minták esetében 40% haematocrit értéknél, ahol az MCH, és 60% haematocrit értéknél, ahol az MCHC változott (II. táblázat).

5.1.2. Vörösvérsejt aggregatio

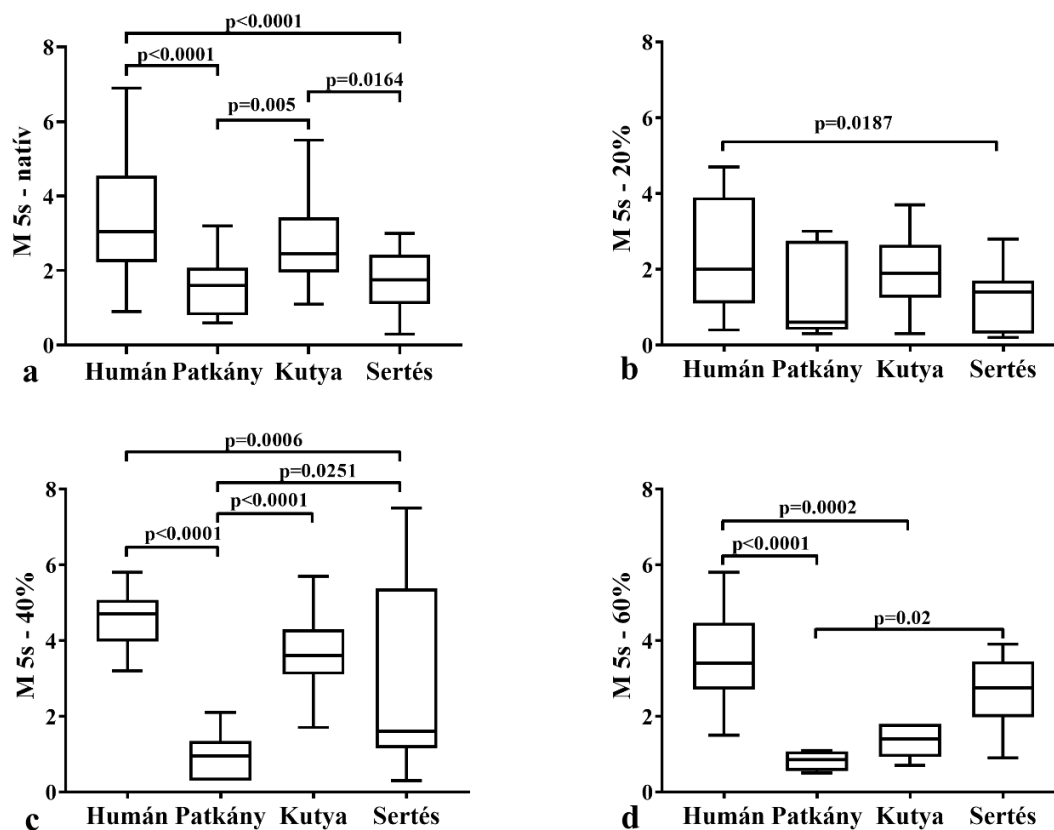
5.1.2.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény-transzmissziós módszerrel

A Myrenne MA-1 aggregometerrel meghatározott négy indexparaméter közül, a stasisban, 5 másodpercnél mért, M 5s paraméterre fókuszáltunk, mivel ezen paraméternél láttuk a legszámottevőbb változásokat. Az M 5s paraméter szignifikáns fajok közötti különbségeket mutatott a natív haematocrit esetében (humán vs. patkány: $p < 0,0001$; humán vs. sertés: $p < 0,0001$; kutya vs. patkány: $p = 0,005$; kutya vs. sertés: $p = 0,0164$). A különbségek a vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban is szignifikánsak mutatkoztak 20% haematocriton (humán vs. sertés: $p = 0,0187$), 40% haematocrit mellett (humán vs. sertés: $p = 0,0006$; ember vs. patkány: $p < 0,0001$; sertés vs. patkány: $p = 0,0251$; kutya vs. patkány: $p < 0,0001$) és a 60% haematocritra állított szuszpenziókban (humán vs. patkány: $p < 0,0001$; humán vs. kutya: $p = 0,0002$; patkány vs. sertés: $p = 0,02$) (15. ábra).

II. táblázat: Az egyes fajok válogatott haematologiai paramétereit különböző haematocrit értékeknél

	Humán (n=7)				Patkány (n=6)			
	alap	20%	40%	60%	alap	20%	40%	60%
Hct [%]	46,41±3,16	20,93±0,63*	43,07±0,87*	61,57±1,11*	44,59±2,77	17,78±2,31*	39,27±1,55	58,78±1,21*
RBC [T/L]	5,32±0,34	2,4±0,13*	4,95±0,22*	7,13±0,39*	7,59±0,84°	3,19±0,41*	6,91±0,33	10,2±0,45*
Hgb [g/dL]	16,11±1,29	7,29±0,28*	14,99±0,5*	21,93±0,6*	14,64±0,79	6,02±0,84*	13,02±0,61*	19,18±0,28*
MCV [fL]	87,25±3,39	87,41±3,53	87,11±3,59	86,57±3,52	56,58±1,42°	55,68±1,99	56,87±1,91	57,93±1,75
MCH [pg]	30,26±1,17	30,43±1,21	30,33±1,42	30,8±1,32	18,58 ± 0,82°	18,82 ± 0,78	18,85 ± 0,66	16,17 ± 7,12
MCHC [g/dL]	34,7±0,69	34,43±1,37	34,39±1,13	35,14±1,45	32,85±0,75	33,8±0,59	33,13±0,45	32,65±0,52
	Kutya (n=6)				Sertés (n=7)			
	alap	20%	40%	60%	alap	20%	40%	60%
Hct [%]	55,88±4,49°+	19,93±1,17*	39,23±2,01*	60,99±3,65*	43,61 ± 9,93#	23,31 ± 1,75*	41,56 ± 2,62	58,48 ± 6,7*
RBC [T/L]	8,08±0,43°	2,95±0,28*	5,81±0,4*	8,84±0,56*	6,87±1,3°#	3,72±0,35*	6,59±0,4	8,69±0,55*
Hgb [g/dL]	17,03±1,99+	6,43±0,81*	12,76±1,37*	18,85±2,44*	7,94±0,68°+#	4,25±0,3*	6,24±2,3	8±0,9
MCV [fL]	66,66±10,25°+	67,83±4,24	67,61±2,77	69,09±4,09	63,23 ± 4,45°+	62,66 ± 4,74	63,19 ± 4,1	67,13 ± 3,47
MCH [pg]	21,05±1,95°	21,7±1,19	21,91±1,45	21,26±1,78	12,38 ± 2,83°+#	11,99 ± 2,3	9,43 ± 3,2*	10,27 ± 0,18
MCHC [g/dL]	30,68±4,56	32,21±3,31	32,55±3,16	30,97±4,2	18,91 ± 3,64°+#	18,35 ± 2,05	15,23 ± 5,98	13,95 ± 2,88*

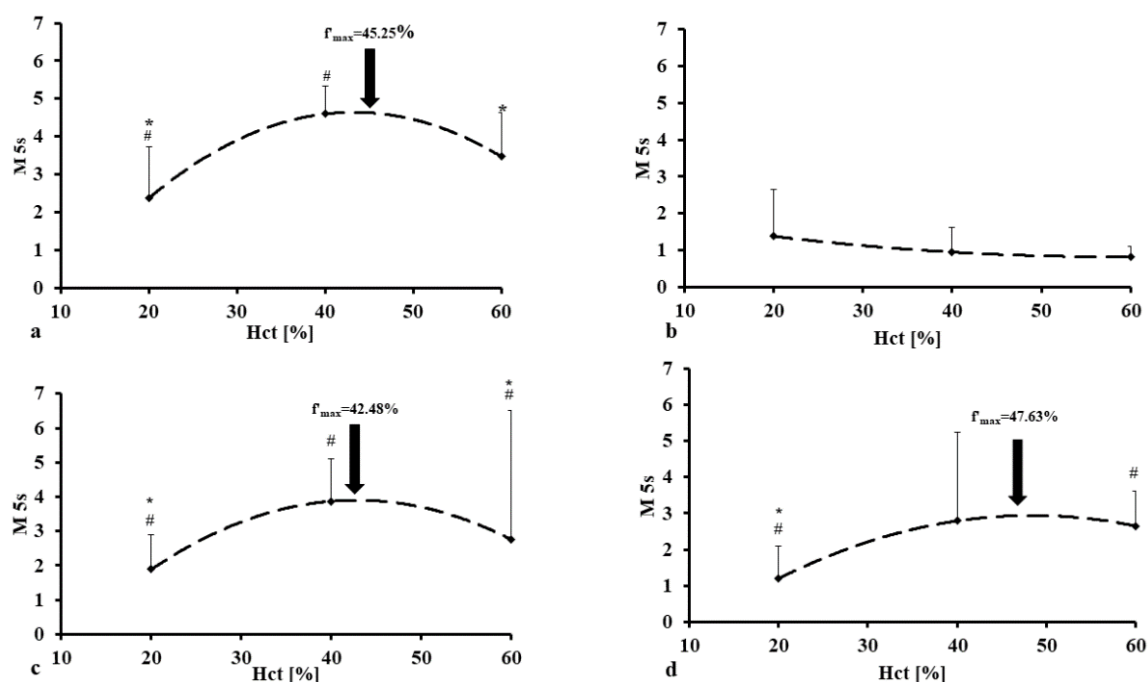
átlag ±SD, *vs alap, ° vs. humán alap, + vs. patkány alap, # vs. kutya alap, p<0,05



15. ábra:

M 5 s aggregációs index paraméter (Myrenne MA-1 aggregométer) natív haematocriton (a), valamint vörösvérsejt- autológ plazma szuszpenziókban 20% (b), 40% (c) és 60% (d) haematocrit mellett. medián, 25% és 75% percentilis, valamint a maximum és minimum értékek.

Az aggregációs index értékeket a haematocrit függvényében ábrázoltuk, az egyes pontokra illesztett, legmagasabb regressziós koefficiens adó görbék deriválásával megkaptuk az egyes indexparaméterek csúcspontjához tartozó haematocrit értékeket. (16. ábra). Humán vérmintánál ez 43,95%, kutyánál 42,48%, sertésnél 47,63%-nak bizonyult. Patkány vérminták esetében csak az M1 10s adatokkal számíthattunk maximum pontot, ami 44,44% haematocrit értéknél volt.



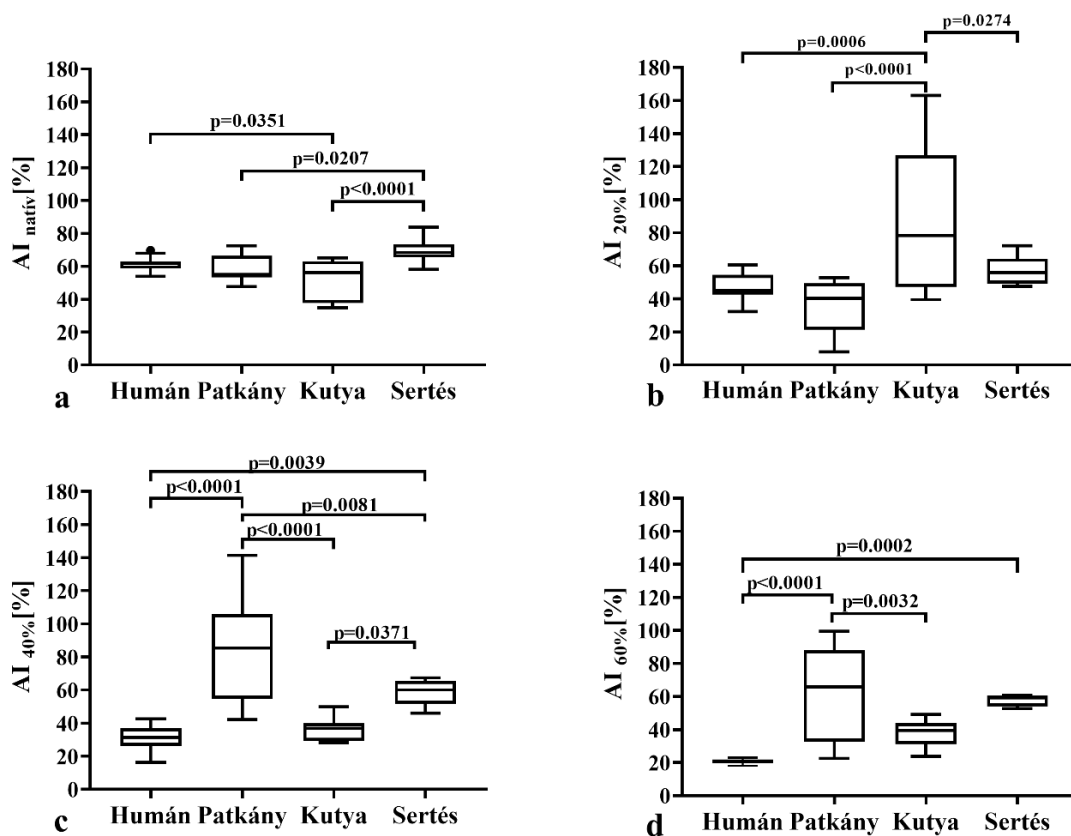
16. ábra:

Humán (a), patkány (b), kutya (c) és sertés (d) vérminták M5 aggregációs index paraméterek a haematocrit függvényében. A nyilak az illesztett görbék maximum pontját mutatják.

$p < 0,05$ vs. alap, * $p < 0,05$ vs. 40%

5.1.2.2. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása fény reflektancián alapuló módszerrel

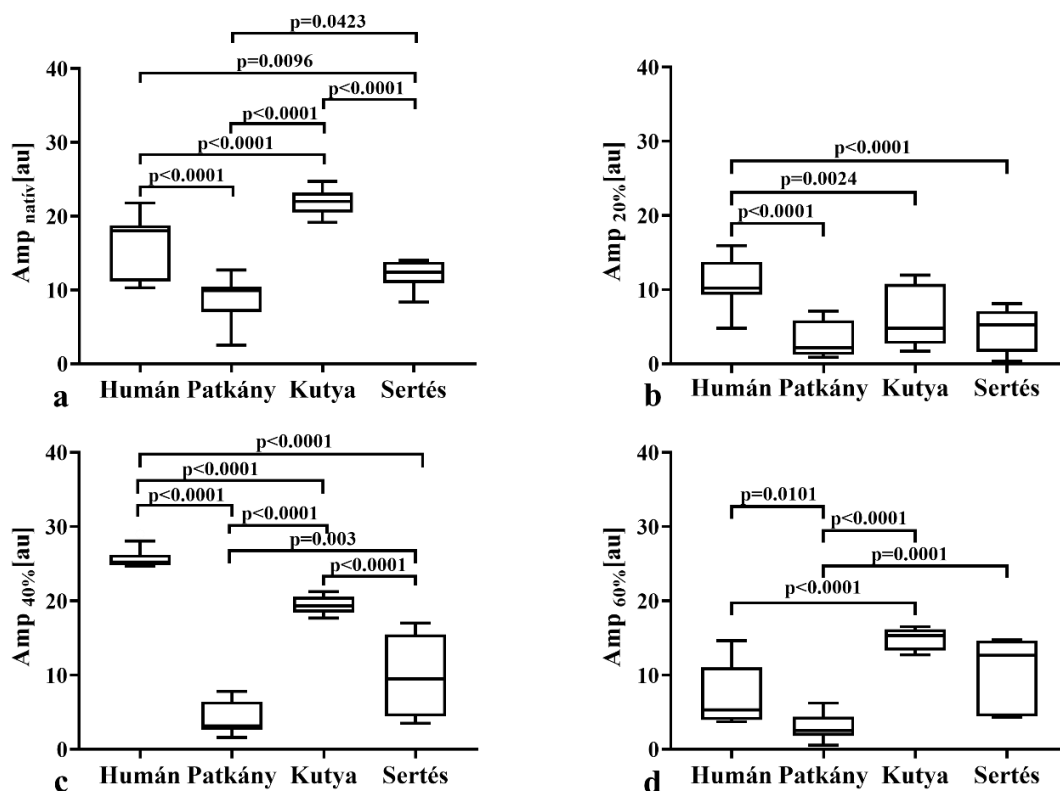
Az reflektometriás módszerrel mért aggregációs index (AI [%]) szignifikáns különbségeket mutatott az egyes fajok között, natív haematocriton (humán vs. kutya: $p = 0,0351$; sertés vs. patkány: $p = 0,0207$; sertés vs. kutya $p < 0,0001$), valamint a vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban 20% haematocrit mellett (humán vs. kutya: $p = 0,0006$; patkány vs. kutya: $p < 0,0001$; kutya vs. sertés: $p = 0,0274$), 40% haematocrit értéknél (humán vs. sertés: $p = 0,0039$); humán vs patkány: $p < 0,0001$; sertés vs. patkány: $p = 0,0081$; sertés vs. kutya; $p = 0,0371$; kutya vs. patkány: $p < 0,0001$), és a 60%-os szuszpenziók esetén (humán vs. sertés: $p = 0,0002$; humán vs. patkány: $p < 0,0001$; kutya vs. patkány: $p = 0,0032$) (17. ábra). Csak patkány adatok esetén tudtuk kiszámítani az aggregatio maximumához tartozó haematocrit értéket: 43,3% ($y = -0,0835x^2 + 7,2315x - 70,481$). A többi fajnál a görbék ennél a paraméternél nem adtak maximum pontot.



17. ábra:

Aggregációs index értékek (LoRRca MaxSis Omoscan ektacytometer) natív haematocriton (a), valamint vörösvérsejt- autológ plazma szuszpenziókban 20% (b), 40% (c) és 60% (d) haematocrit mellett. medián, 25% és 75% percentilis, valamint a maximum és minimum értékek.

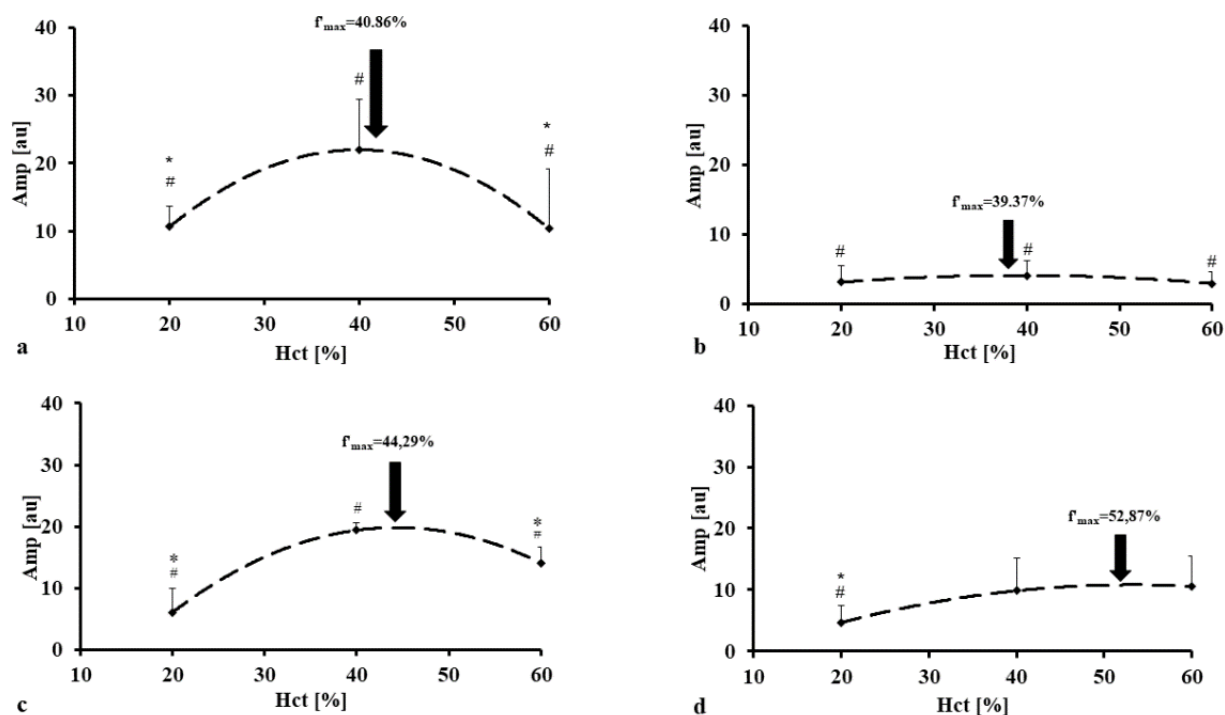
A natív haematocrittal rendelkező vérminták amplitúdója (amp [au]) fajok között szignifikánsan különbözött (humán vs. patkány: $p < 0,0001$; humán vs. kutya: $p < 0,0001$; humán vs. sertés: $p = 0,0096$; kutya vs. patkány $p < 0,0001$; vs. sertés $p < 0,0001$; patkány vs. sertés $p = 0,0423$). A patkány, kutya és sertés vörösvérsejt – autológ plazma szuszpenziók értékei 20%-os haematocrit mellett jelentősen eltértek a humán mintáktól ($p < 0,0001$, $p = 0,0024$ és $p < 0,0001$). A 40%-os szuszpenziók esetén erős szignifikáns különbségeket láttunk minden lehetséges kombinációban ($p < 0,0001$). A 60%-os szuszpenziók szignifikánsan különböztek az humán és kutya ($p < 0,0001$), humán és patkány ($p = 0,0101$), patkány és kutya ($p < 0,0001$), valamint patkány és sertés ($p = 0,0001$) között (18. ábra).



18. ábra:

Amplitúdó értékek (LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer) natív hematocriton (a), valamint vörösvérsejt- autológ plazma szuszpenziókban 20% (b), 40% (c) és 60% (d) haematocrit mellett. medián, 25% és 75% percentilis, valamint a maximum és minimum értékek

A teljes intenzitás változás esetében minden fajnál kiszámításra került a korábban említett csúcsponthoz tartozó haematocrit érték: 40,86% embernél ($y = -0,0287x^2 + 2,2881 \times -23,641$), 39,37% patkánynál ($y = -0,0027x^2 + -0,212$). 0,0183), 44,29% kutyánál ($y = -0,0233x^2 + 2,064 \times -25,884$) és 52,8% sertésnél ($y = -0,0056x^2 + 0,5921 \times -4,9259$) (19. ábra).



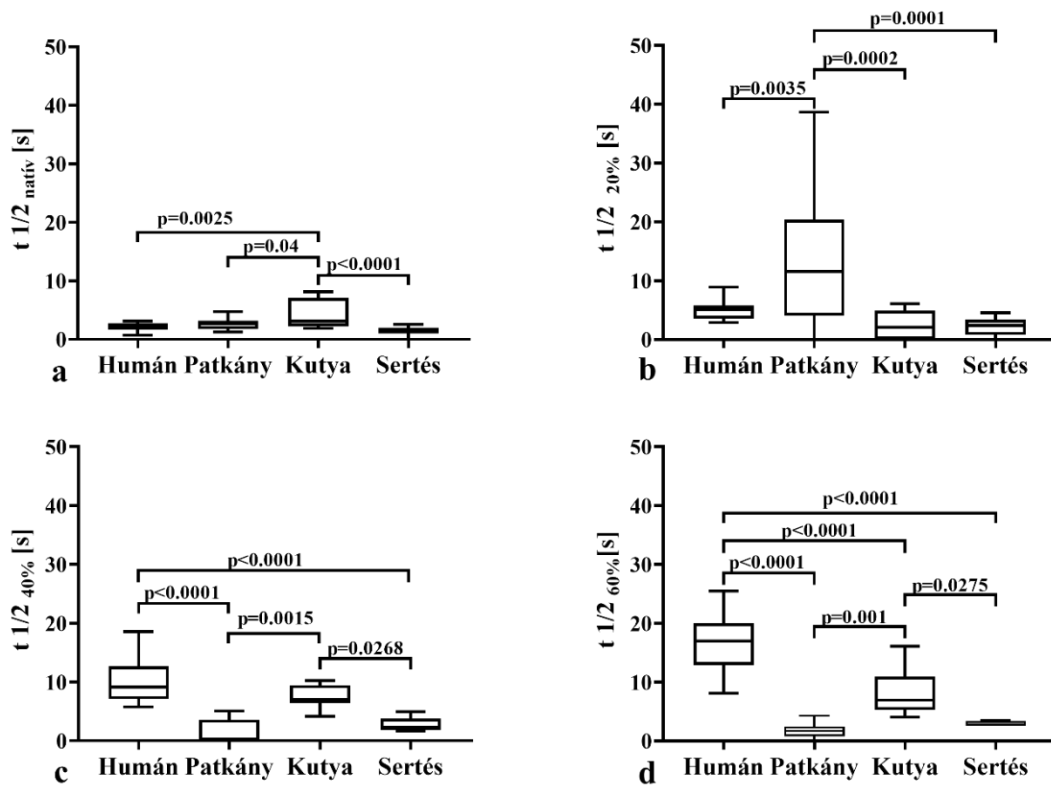
19. ábra:

Humán (a), patkány (b), kutya (c) és sertés (d) vérminták amplitúdó értékei a haematocrit függvényében. A nyilak az illesztett görbék maximum pontját mutatják.

$p < 0,05$ vs. alap, * $p < 0,05$ vs. 40%

A natív haematocritú minták fél-amplitúdó idő ($t_{1/2}$ [s]) értékeiben szintén szignifikáns különbségeket mutattunk ki a vizsgált fajok között (humán vs. kutya: $p = 0,0025$; kutya vs. patkány: $p = 0,004$; kutya vs. sertés: $p < 0,0001$). 20%-os haematocrit mellett szignifikáns különbséget találtunk patkány és humán ($p = 0,035$), a patkány és a kutya ($p = 0,0002$) és a patkány vs. sertés ($p = 0,0001$); 40%-os mintáinkban a humán vs. sertés ($p < 0,0001$), humán vs patkány ($p < 0,0001$), patkány vs kutya ($p = 0,0015$) és kutya vs sertés ($p = 0,0268$); 60%-os haematocritnél a humán vs. sertés ($p = 0,0001$), humán vs. kutya ($p < 0,0001$), humán vs. patkány ($p < 0,0001$), a patkány vs. kutya ($p = 0,001$) és a kutya vs. sertés ($p = 0,0275$) összehasonlítások esetén (20. ábra). Humán, kutya és sertés mintákban a $t_{1/2}$ a haematocrit értékkel emelkedett, az aggregációs folyamat lassult. Kutya és sertés minták adataira az illesztett görbék maximum pontjait a korábban ismertetett

módon azonosítottuk: 54,21% kutyáknál ($y = -0,0051x^2 + 0,5529x - 6,5992$) és 58,5% sertéseknél ($y = -0,0004x^2 + 0,0004x + 0,143$). A patkány mintákban minimum pontot tudtunk számolni, ami 46,15% ($y = 0,0234x^2 - 2,1889x + 51,847$).



20. ábra:

Fél-amplitúdó idő értékek (LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer) natív hematocriton (a), valamint vörösvérsejt- autológ plazma szuszpenziókban 20% (b), 40% (c) és 60% (d) haematocrit mellett. medián, 25% és 75% percentilis, valamint a maximum és minimum értékek

5.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a mikro-rheológiai paraméterekre

5.2.1. Oestrus ciklus meghatározás

A hüvelykeneteket megvizsgálva azt találtuk, hogy a PCOS csoport oestrus ciklusa a kísérlet 90. napjától leállt pro-oestrus (77,78%) és met-oestrus (22,22%) fázisban, és nem normalizálódott, míg a kontrollok oestrus ciklusa normális maradt a kísérlet ideje alatt (III. táblázat).

III. táblázat: Az oestrus ciklus fázisainak megoszlása az állatokban a kísérlet kezdetén (alap), valamint a 30., 60., 90. és 120. napon. Az egyes fázisokban a patkányok százalékos arányát

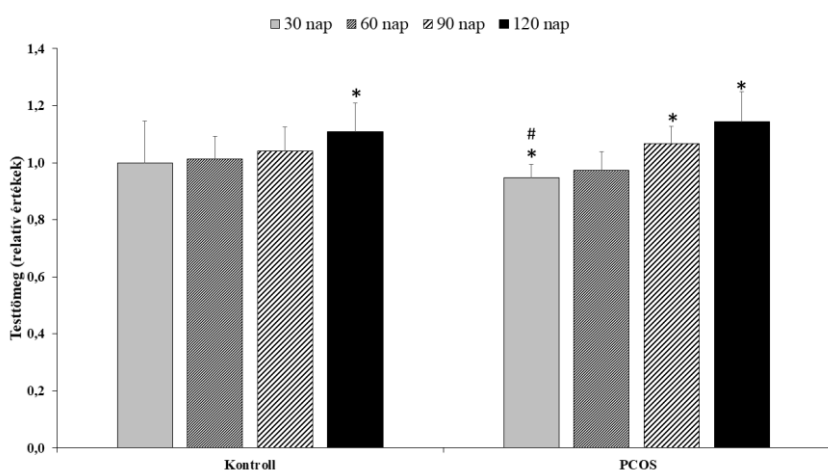
	Alap		30 nap		60 nap		90 nap		120 nap	
	Kontroll	PCOS	Kontroll	PCOS	Kontroll	PCOS	Kontroll	PCOS	Kontroll	PCOS
Pro-estrous	-	33,3%	22,22%	33,33%	44,44%	56%	62,5%	77,78%	12,5%	77,78%
Estrous	66,6%	33,3%	55,56%	-	22,22%	11,11%	25%	-	62,5%	-
Met-estrous	33%	-	22%	44,44%	11,11%	33,33%	12,5%	22,22%	25%	22,22%
Di-estrous	-	33,3%	-	22,22%	22,22%	-	-	-	-	-

5.2.2. Laboratóriumi mérések

5.2.2.1. Testtömeg és vércukorszint meghatározás

A kontroll állatok testtömege a relatív értékeket vizsgálva szignifikánsan emelkedett az alap adatokhoz képest ($p=0,017$) a 4. hónapra. A PCOS csoportban az abszolút (120. nap vs. alap $p=0,003$) és a relatív (120. nap vs. alap $p=0,03$) értékekben is emelkedést találtunk (21. ábra).

Az állatok viselkedésében nem figyeltünk meg semmilyen változást. A bundájuk rendezett volt, a szemük tiszta, és nem volt látható porfirines elszíneződés. Nem láttunk különbséget a táplálék- és vízfogyasztásban a két csoport között.

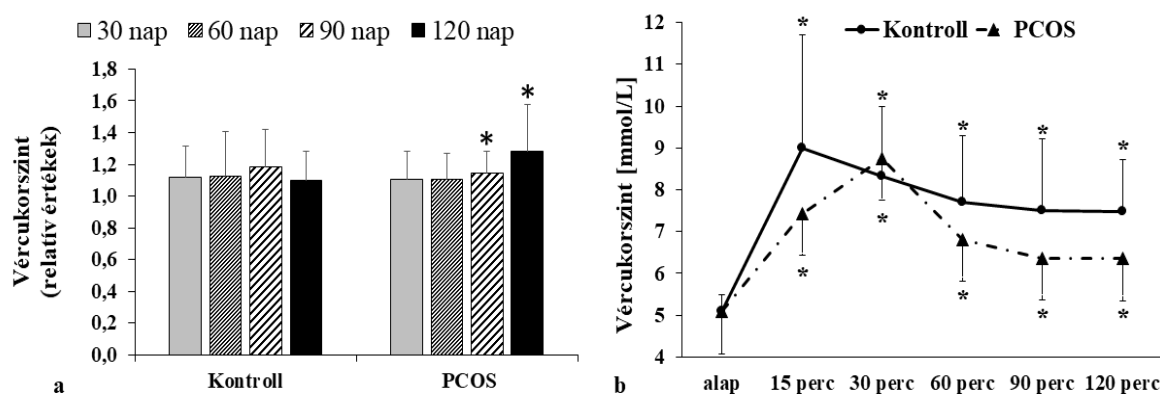


21. ábra:

A kontroll és a PCOS csoport testtömegének változásai.
Átlag $\pm$ S.D.; * $p<0,05$ vs. alap, # $p<0,05$ vs. kontroll

A vércukorszint (22.a. ábra) a PCOS csoportban folyamatosan emelkedett, a 4. hónapra szignifikánsan magasabb volt, mint a kiindulási érték ($p=0,021$).

Az OGTT alatt a kontrollcsoport és a PCOS csoport vércukorszintje is szignifikáns emelkedést mutatott 15 perccel a glükóz beadását követően az alap adatokhoz képest (22.b. ábra). A PCOS csoportban a 30. percig emelkedett a vércukorszint, majd meredek csökkenést figyeltünk meg. A kontroll csoport értékei csökkentek a 15 percnél mért csúcs után. Mindkét csoport esetében minden időpontban szignifikánsan magasabb eredményeket kaptunk, mint az alapméréseknél, azonban statisztikailag nem volt szignifikáns különbség a két csoport között (22.b. ábra).



22. ábra:

A vércukorszint változásai (a) és az OGTT eredményei (b) a kontroll és a PCOS csoportban.
Átlag $\pm$ S.D.; * $p<0,05$ vs. alap, # $p<0,05$ vs. kontroll

5.2.2.2. Haematologiai paraméterek meghatározása

A PCOS csoportban a vörösvérsejt számban (120. nap vs. alap $p=0,015$, 120. nap vs. kontroll $p<0,001$), a haematokrit (120. nap vs. alap $p=0,004$, 120. nap vs. kontroll $p=0,004$) és a haemoglobin értékekben (60. nap vs. alap $p<0,001$, 60. nap vs. kontroll $p<0,001$, 120. nap vs. kontroll $p<0,001$) szignifikáns csökkenést találtunk az alapértékekhez és a kontroll csoporthoz viszonyítva. Továbbá a PCOS csoportban szignifikánsan csökkent a

fehérvérsejtszám (120. nap vs. alap $p=0,03$, 90. nap vs. kontroll $p=0,041$), és szignifikánsan nőtt a thrombocytaszám (120. nap vs. alap $p<0,001$) és az MCV (90. nap vs. kontroll $p=0,006$, 30. nap vs. alap $p=0,015$, vs. kontroll $p=0,017$). Az MCH értékekben (90. nap vs. alap $p<0,001$, vs. kontroll $p=0,006$, 120. nap vs. alap $p=0,002$; 30. nap vs. kontroll $p=0,02$), szignifikáns emelkedés volt megfigyelhető a PCOS csoportban a kezdeti csökkenés után. Folyamatos növekedés volt tapasztalható az MCHC-értékekben (60. nap vs. alap $p<0,001$, 90. nap vs. alap $p=0,003$, 120. nap vs. alap $p=0,001$) (IV. táblázat).

IV. táblázat: Változások a haematológiai paraméterekben a kontroll és a PCOS csoportban.

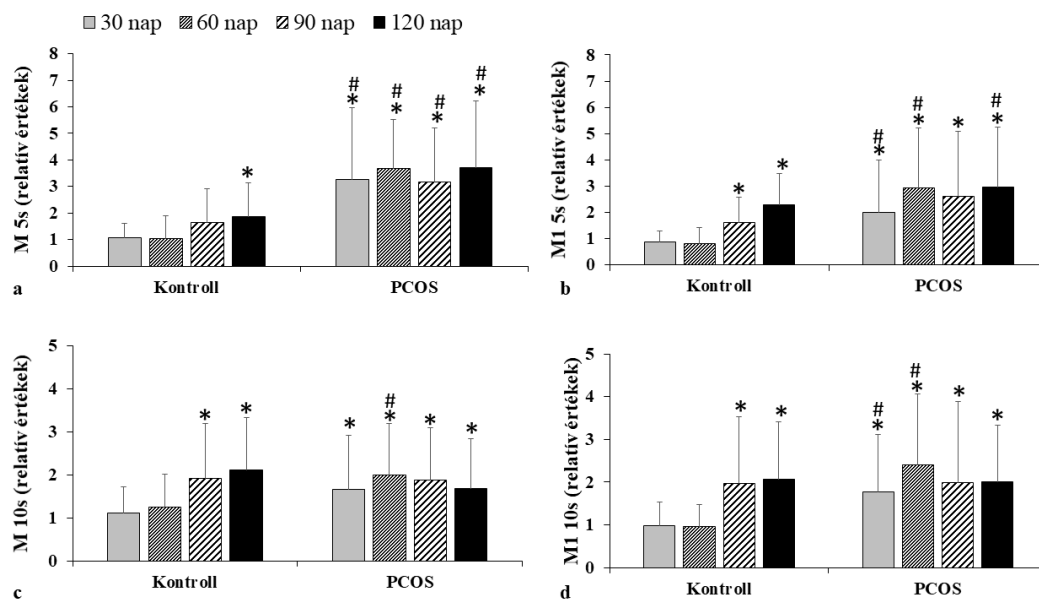
		Alap	30 nap	60 nap	90 nap	120 nap
Fvs [$10^9/L$]	Kontroll	4,37±0,83	5,27±0,87	5,11±1,61	5,41±1,73	4,61±1,1
	PCOS	5,25±1,05 #	5,82±1,4	4,8±1,48	3,97±0,97 *#	3,96±1,3 *
Vvs [$10^{12}/L$]	Kontroll	7,12±0,71	6,86±0,42	7,38±0,49	7,42±0,38 *	7,48±0,32 *
	PCOS	7,33±0,34	6,68±0,3 *	6,41±0,55 *#	6,8±0,39 *#	6,85±0,54 *#
Hct [%]	Kontroll	41,56±4,2	40,24±2,6	43,01±2,48	43,11±1,96	44±2 *
	PCOS	42,89±1,82	38,37±1,74 *#	37,34±3,89 *#	40,12±2,17 *#	40,17±2,56 *#
Hgb [g/dL]	Kontroll	13,8±1,4	13,37±0,94	14,34±0,86	14,29±0,68 *	14,56±0,73 *
	PCOS	14±0,58	12,68±0,61 #	12,39±1,31 #	13,46±0,81 *#	13,47±0,83 *#
MCV [fL]	Kontroll	58,3±0,74	58,6±1,05	58,33±1,22	58,14±1,12	58,85±1,3
	PCOS	58,5±1,17	57,43±1,7 *#	58,1±2,00	58,94±0,91 #	58,75±1,71
MCH [pg]	Kontroll	19,4±0,52	19,5±0,61	19,45±0,65	19,28±0,56	19,48±0,57
	PCOS	19,11±0,45	18,93±0,69 #	19,27±0,63	19,8±0,67 *#	19,71±0,66 *
MCHC [g/L]	Kontroll	33,2±0,82	33,2±0,68	33,34±0,75	33,14±0,44	33,09±0,39
	PCOS	32,66±0,41 #	32,97±0,48	33,18±0,44 *	33,54±0,96 *	33,56±0,68 *
Thr [$10^9/L$]	Kontroll	608,6±120,7	597,33±213,45	659±118,9	559,9±195,3	600,6±185,4
	PCOS	534,29±87,69 #	665,2±204,4 *	595,94±136,97	578,67±145,7	645,53±92,57 *

Átlag±S.D.; *p<0.05 vs. alap, # p<0.05 vs. kontroll

5.2.2.3. Haemorheologiai paraméterek meghatározása

A 3 Pa-nál mért elongációs index (EI 3Pa) értékek emelkedtek a 60. (vs. alap $p=0,047$) és a 90. napon (vs. alap $p<0,001$) a PCOS csoportban. Az EI_{max} esetében szignifikáns emelkedést figyeltünk meg a PCOS csoportban (120. nap vs. alap $p=0,035$). Az $SS\frac{1}{2}$ értékek szignifikánsan csökkentek a 90. napon (vs. alap $p<0,001$, vs. kontroll $p<0,001$) és a 120. napon (vs. alap $p<0,001$). A 90. napon (vs. alap $p<0,001$) és 120. napon (vs. alap $p<0,001$) az $EI_{max}/SS\frac{1}{2}$ arány szignifikánsan megemelkedett (V. táblázat).

Az M 5s (120. nap vs. alap $p<0,001$, 120. nap vs. kontroll $p=0,004$) és M1 5s index paraméterekben (120. nap vs. alap $p<0,001$, 120. nap vs. kontroll $p=0,015$) (23. a, b ábra) a PCOS csoportban jelentős, folyamatos növekedés volt megfigyelhető. Az M 10s (120. nap vs. alap $p=0,005$) és M1 10s (120. nap vs. alap $p<0,001$) paraméterekben (23. c, d ábra) szintén növekedés volt tapasztalható, az első két hónapban, de ezt követően ezen paraméterek értékei csökkentek, és a két csoport között ekkor már nem volt statisztikailag szignifikáns különbség.



23. ábra:
A vörösvérsejtek aggregációs index paramétereinek változtatása
M 5s (a), M1 5s (b), M 10s (c) és M1 10s (d).
Átlag $\pm$ S.D.; * $p<0,05$ vs. alap, # $p<0,05$ vs. kontroll

5.2.2.4. Hormonszint mérések

Az FSH szintekben egyik csoportban sem találtunk szignifikáns különbséget, sem saját alapértékeikhez, sem egymás értékeihez viszonyítva. Az LH értékek szignifikánsan megemelkedtek a PCOS csoportban a 120. napra az alapértékekhez képest ($p=0,036$). A tesztoszteronszint mindkét csoportban emelkedett (VI. táblázat).

5.2.2.5. Szövettani vizsgálatok

A PCOS csoport esetében az ovarium és az uterus makroszkópos eltéréseket mutatott: nagy petefészek, a felszíni rétegen keresztül is jól látható cisztás tüszőkkel, a méh megnagyobbodott és ödémás volt (24. ábra).



24. ábra

Egészséges petefészek (A), policisztás állat méhének (B) és petefészkének (C) makroszkópos képe (A Sebészeti Műtéteti Tanszék fényképanyagából)

A petefészek szövettani vizsgálata policisztás elváltozásokat mutatott a PCOS csoportban, míg a kontroll csoport normális petefészek szerkezettel rendelkezett. A PCOS csoportban sok cisztás tüsző volt, csökkent a sárgatestek száma, és szignifikánsan csökkent az ép folliculusok száma (VII. táblázat). A kontroll csoport petefészekében több elsődleges, másodlagos és antrális folliculus volt látható. (25. ábra).

V. táblázat: Változások a vörösvérsejt deformabilitást leíró paraméterekben a kontroll és a PCOS csoportban.

		Alap	30 nap	60 nap	90 nap	120 nap
EI 3Pa	Kontroll	0,38±0,01	0,38±0,02	0,4±0,01 *	0,38±0,01	0,39±0,01 *
	PCOS	0,38±0,02	0,38±0,01	0,39±0,01 *	0,39±0,01 *#	0,39±0,01
EI max	Kontroll	0,55±0,02	0,56±0,02	0,57±0,02 *	0,56±0,03	0,57±0,03 *
	PCOS	0,54±0,02	0,57±0,02 *	0,57±0,01 *	0,56±0,03 *	0,56±0,24 *
SS _{1/2} [Pa]	Kontroll	1,78±0,22	1,79±0,3	1,73±0,22	1,73±0,19	1,14±0,33 *
	PCOS	1,62±0,2 #	1,75±0,2 *	1,78±0,18 *	1,16±0,34 *#	1,24±0,24 *
EI max / SS _{1/2} [Pa ⁻¹]	Kontroll	0,31±0,04	0,33±0,08	0,33±0,05	0,32±0,03	0,49±0,11 *
	PCOS	0,34±0,04	0,33±0,04	0,33±0,04	0,47±0,1 *#	0,46±0,09 *

Átlag±S.D.; *p<0.05 vs. alap, # p<0.05 vs. kontroll

VI. táblázat: Relatív változások (alapértékhez képest) az FSH, LH és tesztoszteron szintekben, a kontroll és a PCOS csoportokban.

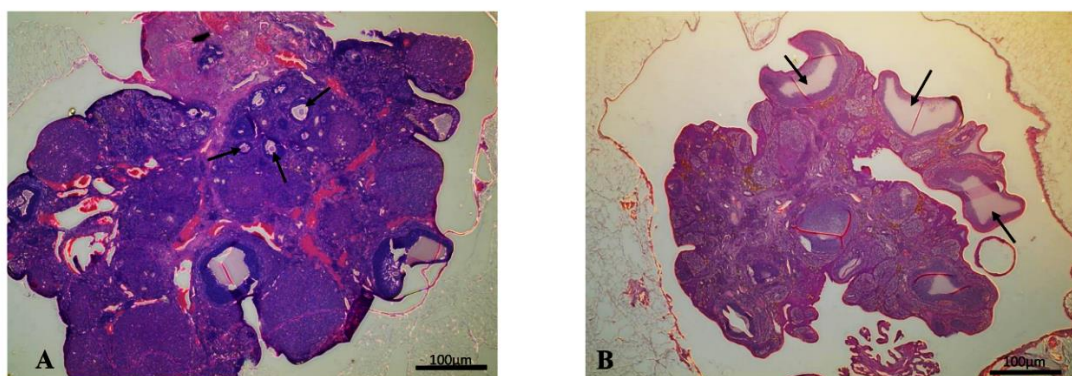
		60 nap	120 nap
LH (relatív értékek)	Kontroll	0,996±0,021	0,998±0,029
	PCOS	1,00±0,012	1,008±0,022 ⁺
FSH (relatív értékek)	Kontroll	0,986±0,039	0,988±0,056
	PCOS	0,985±0,037	1,018±0,062
Testosterone (relatív értékek)	Kontroll	1,376±0,292	1,533±0,677
	PCOS	1,206±1,032	1,472±1,000

Átlag±S.D.; +p<0.05 vs. 60 nap

VII. táblázat: Tüszők, sárgatestek és ciszták száma a kontroll és a PCOS csoportban.

	Kontroll	PCOS
Folliculus szám	6.71±6.01	1.5±1.0
Sárgatest szám	2.83±2.13	1.63±0.9
Ciszta szám	0	5±4.42*
Ciszta átmérő (µm)	0	690±92.14*

Átlag±S.D.; *p<0.05 vs. kontroll



25. ábra:

Reprezentatív képek a normál petefészek (A) és a policisztás petefészek (B) szövettani megjelenéséről. A nyilak az ép folliculusokat (A) és a helyüket átvevő cisztákat (B) jelöli

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Vörösvérsejt aggregatio meghatározása különböző haematocrit értékekre beállított vörösvérsejt-autológ plazma szuszpenziókban, négy faj vonatkozásában

A vörösvérsejt aggregatio pontos folyamata és mechanizmusa még nem teljesen tisztázott, azonban jól ismertek a plazmatikus és sejtszintű befolyásoló tényezők [45,55,129,134]. A fő befolyásoló tényezők közé sorolhatjuk a plazmafehérjéket, mint a fibrinogén, az immunglobulinok vagy a transferrin. A fibrinogént tekintjük a legfontosabb plazmafehérjének a vörösvérsejt aggregatio létrejötte során, ez egy pozitív akut fázis protein, így szintje megemelkedik gyulladásokban vagy szív- és érrendszeri betegségek során [45,55,136,137], ami magyarázza az aggregatio emelkedését inflammatorikus folyamatokban. Az aggregatio mértékét az egymás ellen ható aggregációs (aggregatiót támogató) és disaggregációs (aggregatio ellen ható) erők együttesen határozzák meg. Utóbbiak közé sorolható a nyíróerő, a vörösvérsejtek felszíni töltése és a membrán tulajdonságai, mint a glycocalyx összetétele és a rigiditás mértéke [45,55,129]. A sejtek alakja, mérete, és nem utolsósorban a száma (haematocrit) is jelentős szerepet játszik a folyamat során [45,129,138].

A haemorheológiai paraméterek közül az aggregatio mutatja a legnagyobb faji diverzitást [71,139]. Ennek hátterében számos tényező áll. Ide tartoznak a különböző fajok vörösvérsejtjeinek alaki és méretbeli eltérései, a fibrinogén kötődésének jellegzetességei, az adott állatfajra jellemző haemodinamikai és érgeometriai tulajdonságok, a táplálkozásuk, életmódjuk, valamint a vörösvérsejtek glycolcalyx összetételében található különbségek [71,129,139]. Különbségeket találunk az egyes fajok normál fibrinogén szintjében is (humán: 150-300 mg/dl [129], CD patkány: 128-153 mg/dl; beagle kutya: 177-229 mg/dL [25]; sertés: 213 –273 mg/dl [46]). Ezek a különbségek az aggregatio diverzitását is okozhatják, mivel a fibrinogén szint befolyásolja az aggregatio mértékét. Windberger és mtsai (2003) „referencia tartományokat” állítottak fel a Myrenne stasisban mért aggregációs

index értékeihez, különböző fajok 40% haematocrit értékre beállított vérmintáit vizsgálva. Ez patkányoknál 0,3–1,2; kutyáknál 2,7–4; sertéseknél 2,2–4,6 [71]. A 40%-os szuszpenzióinknál kapott aggregációs index értékek átlaga minden esetben ezekbe az intervallumokba esett.

A táplálkozás is kiemelt szerepet játszik a haemoreologiai paraméterek értékeiben. A magas koleszterinszint nem csak közvetlen hatással van a szív- és érrendszerre, hanem közvetett hatásként a teljes vér viszkozitást is növelheti [140]. A viszkozitás exponenciális kapcsolatban áll a haematocrit értékkel. A haematocrit/viszkozitás arány fajonként eltérő, ez az arány a haematocrittal emelkedik, de egy „optimális” haematocrit érték után (ami a maximális oxigénszállítási kapacitás haematocrit értéke) csökkenés következik be. A megnövekedett teljes vér viszkozitása következtében a haematocrit/viszkozitás arány csökken, ezáltal csökken a vér oxigénszállító képessége. A natív haematocritú patkány mintákban magasabb, mint a kutyamintákban. Ez az „optimális” érték az alkalmazott nyírófeszültségtől függ. A leggyakrabban alkalmazott nyírófeszültségnél (90 s^{-1}) a haematocrit/viszkozitás arány maximuma patkányban 36,5% Hct, kutyában 39,7% [7].

Korábbi tanulmányok megállapították, hogy a haematocrit jelentősen befolyásolja az aggregációt, de ez a kapcsolat nem lineáris [8,141–145]. A Myrenne MA-1 aggregométerrel kapott M 5 s index paraméterben a vizsgált 20%-os haematocrittal rendelkező mintákban csökkenést tapasztaltunk a teljes vérhez képest minden faj esetében. A humán, kutya és sertés adatokban egyfajta „csúcspont” volt megfigyelhető, amelyet az aggregációs index csökkenése követett. Deng és mtsai (1994) humán mintákat vizsgálva ezt a csúcsot 40-42% haematocrit körül találták [8], tanulmányunkban ez a számított csúcserték az M5s indexparaméter esetén emberben, kutyában és sertésben közel 40% haematocrit volt. Ez a csúcspont patkány mintáinkban csak az M1 10 s paraméternél volt megfigyelhető. Ez arra utal, hogy a patkány aggregatio a folyamat első 5-10 másodperce között megy végbe.

A fent említetteket a LoRRca készülékkel mért aggregációs index értékek is megerősítik, mivel ez a paraméter az aggregációs folyamat első 10 másodpercében lezajló fényintenzitás változását reprezentálja, és ennél a paraméternél csak a patkányvér mutatta a „csúcspontot” (43,3%). A 20%-os haematocritű szuszpenziókban a kutyaminták értékei szignifikánsan magasabbak voltak, 40-60%-ban a patkány és az emberi minták eredményei szignifikánsan különböztek a többi fajtól.

A fény-reflektancián alapuló mérések során a humán, kutya és sertés minták nem mutatták a fent említett „csúcspontot”. Ezek esetében a 20%-os szuszpenziók aggregációs indexei magasabbak voltak, mint a 40%-os mintáké. Emellett a $t_{1/2}$ folyamatosan emelkedett, az aggregációs folyamat a haematocrit emelkedésével lelassult. A legnagyobb növekedést a humán mintákban találtuk, ebből arra lehet következtetni, hogy a vizsgált fajok közül az emberi vörösvérsejtek aggregációs képessége a legérzékenyebb a haematocrit változására.

Az általunk leírt „optimális” haematocrit értékek nem egyeznek meg a Hct/viszkozitás arány optimális értékével. Nem csak jelentésben van különbség, hiszen a Hct/viszkozitás arány optimuma a görbe azon pontja, ahol a lehető legmagasabb haematocrit érték a lehető legalacsonyabb viszkozitás értékkel párosul adott sebesség grádiens mellett [17], míg a tanulmányunkban leírt csúcs az aggregatio csúcsát jelzi; de vannak értékbeli különbségek is. A korábban említett maximális aggregációhoz tartozó Hct-értékek patkányokban és kutyában minden paraméter esetén magasabbak, mint a korábbi vizsgálatokban leírt Hct/viszkozitás arány optimális értékei [7]. A fokozott aggregatio elősegíti a plazma-skimming kialakulását a kapillárisokban, ami azt jelenti, hogy a vörösvérsejtek száma csökken az érlumenben [141,146,147]. Ennek eredményeként csökken a szövetek vérellátása, ezáltal csökken az oxigénszállításuk. Ez lehet az oka annak, hogy a maximális oxigénszállítási kapacitás Hct értéke alacsonyabb, mint az aggregációs maximum

Hct értéke. Ez arra utal, hogy a szövetek megfelelő vérellátása csak akkor biztosítható, ha a vörösvérsejt-aggregatio nem éri el a maximális szintet. A túlzott aggregatio ronthatja az oxigénellátást.

Korábbi vizsgálatokban kimutatták, hogy a patkányok $t_{1/2}$ értéke ötször alacsonyabb, mint a sertések és tízszer alacsonyabb, mint a kutyák esetében [10]. Vizsgálatunkban a kutyák natív haematocritú mintáinak $t_{1/2}$ értékei is szignifikánsan magasabbak voltak, mint a humán, patkány és sertés vérminták esetében (kutya > patkány > sertés > ember). A normál, natív haematocrit esetén a kutya vörösvérsejtjeinek aggregációja a leglassabb, az emberi vérsejteké pedig a leggyorsabb. A kutyák natív haematocriton mért értékeinek átlaga szignifikánsan magasabb, mint a többi fajé, valamint a kutyák AI értékei a legalacsonyabbak. Ez a jelenség a haematocrit és az aggregatio nem-lineáris kapcsolatával magyarázható [8].

Az aggregációs folyamat felgyorsulása patkány mintáinkban a középső Hct tartományban volt megfigyelhető. A fél-amplitúdó idő értékei csökkentek, amint azt Deng és mtsai (1994) is leírták [8]. Ugyanakkor a $t_{1/2}$ minimumához tartozó AI volt a legmagasabb, így a patkány vörösvérsejtek aggregációjának jelentős része a folyamat első 10 másodpercében zajlik le. A különböző mérőmódszerek sajátosságai (fény-transzmisszió, illetve fény-reflektancián alapuló módszerek, statikus-kinetikai paraméterek) magyarázhatják ezeket a különbségeket [3,55,129].

Az amplitúdó tekintetében Deng és mtsai a 40%-os mintákban találták a legmagasabb értékeket [8]. Vizsgálatunk egyértelműen azt mutatja, hogy a legnagyobb fényintenzitás változás a 40-50%-os Hct tartományban van, azonban ez fajonként eltérő. A legalacsonyabb értékeket patkányokban mértük, majd ezt a sertés-, ember- és kutyaminták követték. Ebből következik, hogy a patkányvér aggregálódik legkevésbé, amint azt korábbi

összehasonlító vizsgálatok is mutatták [9,10,71]. A teljes vér esetén a legalacsonyabb Amp értékeket patkányban találták [10], amit vizsgálatunk is megerősített.

Vizsgálatunk limitáló tényezői az alacsony esetszám és a módszertani adottságok (pl. minta-előkészítés, mérési módszerek, műszerspecifikációk). Ezek az adatok azonban kiegészítő információs értékkel bírhatnak, és ez által jobban feltárhatjuk a fajok közötti haemorheológiai különbségeket és a vörösvérsejtek aggregációs tulajdonságait változó haematocrit értékek mellett.

6.2. Policisztás ovárium szindróma hatása a mikro-rheológiai paraméterekre

A policisztás ovárium szindróma (PCOS) etiológiája még nem teljeskörűen tisztázott, azonban közismert, hogy a PCOS a fogamzóképes nők egyik leggyakoribb endokrinológiai betegsége [22–24]. A PCOS számos hatással van a vérkeringésre, megemeli plazma viszkozitást, ami egy macro-rheológiai paraméter, ezáltal hatással lesz a micro-rheológiai paraméterekre [148]. Emellett a PCOS-t megnövekedett tesztoszteron, luteinizáló hormon (LH), éhgyomri inzulinszint, magasabb triglicerid- és fibrinogén koncentráció jellemzi. A fibrinogén szint pozitív korrelációt mutat a plazmaviszkozitással [149]. A megnövekedett plazma viszkozitás növeli a teljes vér viszkozitását, és ez ronthatja a véráramlást [101]. Simmonds és mtsai fokozott vörösvérsejt-aggregációt, teljes vér- és plazma viszkozitást, csökkent haematocritot és változatlan vörösvérsejt-deformabilitást írtak le PCOS-ben szenvedő nőknél, összehasonlítva a korban egyeztetett egészséges kontrollokkal [101].

A fő terápiás célok a menstruációs ciklus regularitásának helyreállítása, az infertilitás kezelése és a szénhidrátháztartás stabilizálása. A meddőségi kezelések közé tartoznak a progeszteronterápia és a kломifén-citrát [84]. Az inzulin-rezisztencia és a II-es típusú diabetes esetén a leggyakrabban metformin terápiát alkalmaznak [84]. Az elmúlt években a különböző inozitol származékok, amelyek kulcsszerepet töltenek be az inzulin jelátviteli folyamatokban, mint másodlagos hírvivők, általános gyógyszerre váltak az inzulin-rezisztencia kezelésében. Ezenkívül a különböző inozitol izoformák hatással vannak az ovulációra, ezáltal segíthetnek a meddőség kezelésében [150,151].

Ellentmondásos adatok állnak rendelkezésre az ösztradiol-valerát (EV) glükóz metabolizmusra gyakorolt hatásáról patkányokban. A kutatások emelkedett éhgyomri vércukorszintről számoltak be, vagy nem találtak különbséget a kezelt és a kontroll csoport

között [114,120,126,152]. Dănăsea és mtsai megemelkedett éhgyomri glükóz szintet írtak le, de orális glükóz tolerancia teszt során nem mutattak ki különbséget [114]. Kísérletünkben folyamatosan emelkedő éhgyomri vércukorszintet tapasztaltunk a PCOS-csoportban, az OGTT mérések során azonban nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között [127].

A PCOS indukálására egyetlen dózisban 4mg/állat ösztradiol-valerátot kaptak az állatok 0,5 mL szezám olajban, subcutan injekció formájában [114,118,119]. Az ösztradiol-valerát egy elnyújtott hatású ösztrogén forma, amely a gonadotropin felszabadító hormon (GnRH) regulációjának zavarát okozza a hypothalamus-hypophysis tengelyen, ami a luteinizáló hormon (LH) és folliculus stimuláló hormon (FSH) felszabadulás és/vagy tárolás elégtelenségét eredményezi [127,128]. Az EV-indukált modellben a tesztoszteronszintre gyakorolt hatás dózis függő, míg 2 mg EV használatával a tesztoszteronszint emelkedik [99,114,123,124,127,128,152,153], addig 4 mg EV adásával a szabad tesztoszteron szintje többnyire csökken patkányokban, bár ez utóbbi dózissal is számoltak be emelkedett tesztoszteronszintről [99,114,120,126,154]. Vizsgálatunkban a tesztoszteron szint mindkét csoportban emelkedett volt, de nem volt szignifikáns különbség sem a csoporton belül az egyes időpontok között, sem a kontroll és PCOS csoportok közt. Ellentmondásos adatokat találtunk az EV-kezelés LH-szintekre gyakorolt hatására vonatkozóan is. Számos tanulmányban leírták, hogy az LH-szint emelkedett az EV-indukált patkány modellben [120,123,124,127,153,154], míg mások csökkenő LH-szinteket találtak [99,124,127]. Az ösztrogén-indukált modellekben általában az FSH-szint csökkenését mutatták ki, vagy nem találtak változást [109,118,122,123,127,128,152,155]. Vizsgálatunk során az LH szintek emelkedtek a PCOS csoportban, míg az FSH szintekben egyik csoportban sem találtunk különbséget.

Az EV kezelés hatására a patkányok oestrus ciklusa zavart szenved és leáll, az állatoknál amenorrhea lép fel [122]. Az emberi menstruációs ciklusnak két fázisa van: a folliculáris és a luteális fázis. A folliculáris fázis a menstruáció első napján kezdődik és az ovulációig tart (1-14 nap); a luteális fázis, az ovuláció után kezdődik és 14 nappal azután ér véget (15-28 nap) [91]. Ezzel szemben patkányok ivari ciklusának négy fázisa van, ezek a pro-oestrus, az oestrus, a met-oestrus és a di-oestrus [130,131,156,157]. A különböző fázisokban más és más sejttípusok kerülnek túlsúlyba a hüvelykenetekben, ez alapján lehet megállapítani, hogy egy adott pillanatban mely fázisban van a vizsgált állat (VIII. táblázat). Lara és mtsai, valamint Ramadoss és mtsai megállapították, hogy a patkányok oestrus ciklusa EV kezelés hatására oestrus illetve di-oestrus fázisban leállt [156,158]. Vizsgálatunkban azt találtuk, hogy a PCOS csoport oestrus ciklusa pro-oestrus (77,78%) és a met-oestrus (22,22%) fázisban állt le. A kontroll állatok ciklusa normál maradt a kísérlet végéig. Mivel a Lee-Boot hatás (hímek jelenléte nélkül a nőstény rágcslók ciklusa leáll vagy lelassul [159]) kizárható, így az aciklicitás a hormonkezelésnek tulajdonítható.

VIII. táblázat: Az patkány hüvelykenetekben domináló sejttípusok az oestrus ciklus fázisai szerint (Cora és mtsai. 2015., Ajayi és mtsai 2020. alapján [130,131])

Oestrus ciklus fázisai	Időtartam	Domináló sejttípusok
<i>Pro-oestrus</i>	14 óra	Kicsi, kerek hámsejtek, egységes megjelenés és méret
<i>Oestrus</i>	24-48 óra	Túlnyomórészt magvatlan keratinizált hámsejtek, esetenként magvas hámsejtek és késői fázisban neutrofilek
<i>Met-oestrus</i>	6-8 óra	Magvatlan keratinizált hámsejtek és neutrofilek kombinációja
<i>Di-oestrus</i>	48-72 óra	Neutrofilek, kis és nagy, sejtmaggal rendelkező hámsejtek, kevés magvatlan keratinizált sejt

A nők fertilitása az életkor előrehaladtával csökken, ami a petefészkek működésében bekövetkezett változások, a petesejtek mennyiségének és minőségének csökkenése, valamint a hormonális változásoknak tulajdonítható [160–163]. Ezt az úgynevezett petefészkek-öregedést patkányoknál is megfigyelték, Anzalone és mtsai arról számoltak be, hogy középkorú patkányokban kevesebb folliculus található, mint fiatal állatokban [164]. Az általunk alkalmazott modellnél a petefészkekben megnőtt a cisztás folliculusok és a primer tüszők száma [99,122,123,126–128,152,165], és nem találtunk új sárgatestek [99,121,122,152,165,166], helyettük regresszív régi sárgatesteket helyezkedtek el a petefészkekben [165]. Vizsgálatunkban a PCOS csoportban sok cisztás folliculust találtunk, csökkent a sárgatestek és az egészséges tüszők száma. Kang és mtsai (2015) modelljükben folyamatos fényt alkalmaztak a PCOS előidézésére, ők megnagyobbodott petefészkeket találtak, és szabad szemmel látható, nagy cisztákat figyeltek meg a petefészkek felszínén [100]. Mirabolghasemi és mtsai (2017) megvizsgálták a méhszövetben létrejövő változásokat, és azt találták, hogy a lumen hámszövetének és a méhfal vastagsága a PCOS-csoportban megnövekedett [118]. Makroszkóposan a méh megnagyobbodott és ödémás lett, a petefészkek megnöttek, és a felszíni rétegen keresztül cisztás tüszők jelentek meg.

Kísérletünkben a vörösvérsejtszám, a haemoglobin és a haematocrit szint csökkenését, valamint az aggregációs indexek emelkedését találtuk a PCOS csoportban, ami már a kutatás első hónapjában is látható volt. A PCOS csoportban szignifikáns EI emelkedést figyeltünk meg 3 Pa-nál mért EI és az EImax értékek esetében, ez a változás a beadott nagy mennyiségű ösztrogén hatására következhetett be. Egy *in vitro* kísérletben Farber és mtsai (2018) kimutatták, hogy az exogén ösztrogén növeli a vörösvérsejtek deformabilitását, míg a vörösvérsejt aggregációban nem találtak különbséget [167], azonban Brun és mtsai (2021) leírták, hogy az ösztradiol csökkenti a deformabilitást és fokozza az eryptosist [166]. A fehérvérsejtszámban a PCOS csoportban szignifikáns csökkenést tapasztaltunk, míg a

kontrollok értékei szintén csökkentek, de nem azonos mértékben. Ezekben a változásokban az állatok öregedése is szerepet játszhat. A nőstény patkányok fehérvérsejtszáma és elongációs indexe az öregedés előrehaladtával csökken, míg a vörösvérsejt aggregációs index paraméterei enyhe növekedést mutatnak [132,168].

Vizsgálatunk során PCOS-specifikus változásokat észleltünk a metabolikus paraméterekben (testtömeg-növekedés és emelkedett éhgyomri vércukorszint), a nemi ciklusban (aciklicitás) és szövettani jellemzőkben (érett tüszők hiánya, ciszták megjelenése). A hormonkezelés jelentős változásokat okozott a vizsgált periódusban a haematológiai (vörösvérsejtszám, haematocrit, haemoglobin szintek) és haemorheológiai paraméterekben. Először írtuk le a vörösvérsejt aggregatio és deformabilitás emelkedését az ösztradiol-valerát kezeléssel kiváltott PCOS során patkányokban. Eredményeink felhívják a figyelmet a micro-rheológiai vizsgálatok fontosságára a további PCOS-re irányuló kutatások során.

7. FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Megállapítottuk, hogy a vörösvérsejt aggregatio és a haematocrit kapcsolata fajonként eltérő. Eredményeink alapján elmondható, hogy a vizsgált fajok közül a humán vörösvérsejtek aggregációs képessége a legérzékenyebb a haematocrit változására.
2. Az alacsonyabb vagy magasabb haematocrit esetén tapasztalható kisebb mértékű aggregatio nem minden vizsgált paraméterben mutatkozik meg. A legszembetűnőbb eltéréseket a fény-transzmissziós módszerrel stasisban (M5s módban) és fény-reflektancia elven meghatározott amplitúdó paraméterekkel lehetett kimutatni.
3. Elsőként állapítottuk meg az aggregatio maximumához tartozó haematocrit értékek fajok közötti (humán, patkány, kutya, sertés) eltéréseit, mind statikus, mind dinamikus aggregációs paraméterek esetében.
4. A policisztás ovárium szindróma (PCOS) állatmodelljében történő vizsgálatok során, a humán betegekben leírt jellegzetes tüneteket és elváltozásokat figyeltünk meg, mint testtömeg növekedést, emelkedett éhgyomri vércukorszintet, megszakadt oestrus ciklust, valamint az érett tüszők hiányát és nagyméretű ciszták megjelenését.
5. A vizsgált időszakban jelentős változásokat láttunk a haematológiai (vörösvérsejtszám, haematocrit és haemoglobin értékek csökkenése) és haemorheológiai paraméterekben. Először írtuk le, hogy a vörösvérsejtek aggregációja és deformabilitása fokozódott az ösztradiol-valerát által indukált PCOS során patkányokban.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az egyes haematológiai és haemorheológiai paraméterek kölcsönösen hatással vannak egymásra. Ismert, hogy a haematocrit-teljes vér viszkozitás viszonya nem lineáris, ahogy a haematocrit-vörösvérsejt aggregatio kapcsolat sem, azonban a szakirodalomban fajok közötti különbségekre nem találtunk adatokat. Célunk volt a haematocrit és a vörösvérsejt aggregatio kapcsolatának és annak fajok közötti különbözőségének feltárása, amelyhez különböző Hct értékre beállított vvs-autológ plazma szuszpenziókat használtunk, négy faj (humán, patkány, kutya, sertés) vérmintáit használva. Ezen kívül célul tűztük ki egy átfogó haematológiai és haemorheológiai vizsgálat elvégzését policisztás ovárium szindróma (PCOS) patkány modellben.

Eredményeink alapján az aggregatio-haematocrit kapcsolat jelentős faji különbségeket mutatott, az emberi vérmintáink aggregációs értékei bizonyultak a legérzékenyebbnek a haematocrit változására. Magasabb, illetve alacsonyabb haematocrit tartományban csökkenő aggregatiót találunk, ez legkifejezettebben az M5s fényt-transzmissziós index paraméter és a fény-reflektancia elvén meghatározott amplitúdó paraméter esetén mutatkozott meg. Leírtuk, hogy a vörösvérsejt aggregációhoz tartozó „optimális” haematocrit érték faji különbségeket mutat.

Bár a policisztás ovárium szindróma szinte népbetegségnek számít, és leírták, hogy cardio-vasculáris betegségekre hajlamosít, ennek ellenére a PCOS haemorheológiai paraméterekre gyakorolt hatásáról kevés adat érhető el. Az alkalmazott állatmodellben a humán betegeknél leírt változásokat figyeltünk meg, mind hormonális, mind metabolikus paraméterek tekintetében, ami testtömeg növekedésben, emelkedett éhgyomri vércukorszintben, aciklicitásban és policisztás petefészkek megjelenésében mutatkozott meg. A kezelt csoportban szignifikáns csökkenést láttunk a vörösvérsejtszám, haematocrit és haemoglobin értékekben. Először írtuk le, hogy ösztradiol-valerát indukálta PCOS patkánymodellben a vörösvérsejt aggregatio és deformabilitás fokozódik.

9. SUMMARY

The individual hematological and hemorheological parameters mutually influence each other. It is known that the hematocrit-whole blood viscosity relationship is not linear, and neither is the hematocrit-red blood cell aggregation relation. However, scientific publication data is not available. In various pathological states of the body, hemorheological parameters show significant changes. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common disease among women, and it is well known that it predisposes to cardiovascular diseases, however, little data is available on the effect of PCOS on hemorheological parameters.

We aimed to explore the relationship between hematocrit and red blood cell aggregation and its differences between species (human, rat, dog, and pig). To examine we used RBC-autologous plasma suspensions adjusted to different Hct values. In addition, we aimed to perform a comprehensive hematological and hemorheological study in a PCOS rat model.

Based on our results, the aggregation-hematocrit relationship shows significant interspecies differences, the aggregation values of our human blood samples proved to be the most sensitive to hematocrit changes. We observed a decreasing aggregation in the higher and lower hematocrit ranges, this was most pronounced in the case of the M5s light transmission index parameter and the amplitude parameter determined by the light reflectance method. We described that the "optimal" hematocrit value for red blood cell aggregation shows interspecies differences.

In the used PCOS animal model, we observed the changes described in human patients, for hormonal and metabolic parameters, such as increased body weight, elevated fasting blood glucose levels, acyclicity, and the appearance of polycystic ovaries. In the treated group, we saw a significant decrease in the red blood cell count, hematocrit, and hemoglobin values. We described the first time that red blood cell aggregation and deformability increased in an estradiol-valerate-induced PCOS rat model.

10. IRODALOMJEGYZÉK

10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

- 1 Copley AL. The history of clinical hemorheology. *Clin Hemorheol* 1985;(5):765–811.
- 2 Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, és mtsai. (2009): Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. *Biorheology* 46(3):251–64.
- 3 Baskurt OK, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, Alexy T, és mtsai. (2009): Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc* 43(4):283–98.
- 4 Lee BK, Alexy T, Wenby RB, Meiselman HJ. (2007): Red blood cell aggregation quantitated via Myrenne aggregometer and yield shear stress. *Biorheology* 44(1):29–35.
- 5 Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (2007) szerk.: Handbook of hemorheology and hemodynamics. Washington, DC: IOS Press
- 6 Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (2012): Red Blood Cell Aggregation. Boca Raton: CRC Press.
- 7 Nemeth N, Alexy T, Furka A, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, és mtsai. (2009): Inter-species differences in hematocrit to blood viscosity ratio. *Biorheology* 2:155–65.
- 8 Deng LH, Barbenel JC, Lowe GD (1994): Influence of hematocrit on erythrocyte aggregation kinetics for suspensions of red blood cells in autologous plasma. *Biorheology* 31(2):193–205.
- 9 Kiss F, Toth E, Miszt-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):215–27.
- 10 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):1074–83.
- 11 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):381–98.
- 12 Radosinska J, Vrbjar N (2016): The role of red blood cell deformability and Na,K-ATPase function in selected risk factors of cardiovascular diseases in humans: focus on hypertension, diabetes mellitus and hypercholesterolemia. *Physiol Res* 65 Suppl 1:S43-54.
- 13 Tsuda K (2020): Red blood cell abnormalities and hypertension. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens* 43(1):72–3.

- 14 Tan JKS, Wei X, Wong PA, Fang J, Kim S, Agrawal R (2020): Altered red blood cell deformability-A novel hypothesis for retinal microangiopathy in diabetic retinopathy. *Microcirc* 27(7):e12649.
- 15 Keymel S, Heiss C, Kleinbongard P, Kelm M, Lauer T (2011): Impaired red blood cell deformability in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 43(11):760–5.
- 16 Sabo A, Jakovljević V, Stanulović M, Lepsanović L, Pejin D (1993): Red blood cell deformability in diabetes mellitus: effect of phytomenadione. *Int J Clin Pharmacol* 31(1):1–5.
- 17 Németh N (2020): Haemorheologiai alapismeretek. Debreceni Egyetemi Kiadó
- 18 Piagnerelli M, Boudjeltia KZ, Vanhaeverbeek M, Vincent J-L(2003): Red blood cell rheology in sepsis. *Intensive Care Med* 29(7):1052–61.
- 19 Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. (2004) *Fertil Steril* 81(1):19–25.
- 20 Osibogun O, Ogunmoroti O, Michos ED (2020): Polycystic ovary syndrome and cardiometabolic risk: Opportunities for cardiovascular disease prevention. *Trends Cardiovasc Med* 30(7):399–404.
- 21 Sirmans S, Pate K (2013): Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol* 18;6:1-13.
- 22 Kowalczyk K, Franik G, Kowalczyk D, Pluta D, Blukacz Ł, Madej P (2017): Thyroid disorders in polycystic ovary syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 21(2):346–60.
- 23 Zhou F, Shi L-B, Zhang S-Y (2017): Ovarian Fibrosis: A Phenomenon of Concern. *Chin Med J* 130(3):365.
- 24 Mansour A, Hosseini S, Larijani B, Mohajeri-Tehrani MR (2016): Nutrients as novel therapeutic approaches for metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *EXCLI J* 5;15:551-564.
- 25 Yang X, Wu R, Qi D, Fu L, Song T, Wang Y, és mtsai. (2021): Profile of Bile Acid Metabolomics in the Follicular Fluid of PCOS Patients. *Metabolites* (12):845.
- 26 Uyuklu M, Canpolat M, Meiselman HJ, Baskurt OK (2011): Wavelength selection in measuring red blood cell aggregation based on light transmittance. *J Biomed Opt* 16(11).
- 27 Bok T-H, Hysi E, Kolios MC (2016): Simultaneous assessment of red blood cell aggregation and oxygen saturation under pulsatile flow using high-frequency photoacoustics. *Biomed Opt Express* 7(7):2769–80.
- 28 Simmonds MJ, Meiselman HJ, Baskurt OK (2013): Blood rheology and aging. *J Geriatr Cardiol* 10(3):291-301.

- 29 Zhang J-X, Feng Y, Zhang Y, Liu Y, Li S-D, Yang M-H (2017): Hemorheology index changes in a rat acute blood stasis model: A systematic review and meta-analysis. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 14(4):96–107.
- 30 Bosek M, Ziolkowska B, Pyskir J, Wybranowski T, Pyskir M, Cyrankiewicz M, és mtsai. (2022): Relationship between red blood cell aggregation and dextran molecular mass. *Sci Rep* 12:19751.
- 31 Yeom E, Lee SJ (2015): Microfluidic-based speckle analysis for sensitive measurement of erythrocyte aggregation: A comparison of four methods for detection of elevated erythrocyte aggregation in diabetic rat blood. *Biomicrofluidics* 9(2):024110.
- 32 Neu B, Meiselman HJ (2002): Depletion-mediated red blood cell aggregation in polymer solutions. *Biophys J* 83(5):2482–90.
- 33 Liu Y, Liu WK (2006): Rheology of red blood cell aggregation by computer simulation. *J Comput Phys* 220(1):139–54.
- 34 Mehri R, Mavriplis C, Fenech M (2018): Red blood cell aggregates and their effect on non-Newtonian blood viscosity at low hematocrit in a two-fluid low shear rate microfluidic system. *PloS One* 13(7):e0199911.
- 35 Armstrong JK, Wenby RB, Meiselman HJ, Fisher TC (2004): The hydrodynamic radii of macromolecules and their effect on red blood cell aggregation. *Biophys J* 87(6):4259–70.
- 36 Sheremet’ev YA, Popovicheva AN, Levin GY (2013): Effects of Storage Duration and Temperature of Human Plasma and Serum on Red Blood Cell Aggregation and Shape. *Open J Biophys* 3(4):212–6.
- 37 Hierso R, Waltz X, Mora P, Romana M, Lemonne N, Connes P, és mtsai (2014): Effects of oxidative stress on red blood cell rheology in sickle cell patients. *Br J Haematol* 166(4):601–6.
- 38 Muravyov A, Tikhomirova I (2014): Signaling pathways regulating red blood cell aggregation. *Biorheology* 51(2–3):135–45.
- 39 Rasmussen H, Lake W, Allen JE (1975): The effect of catecholamines and prostaglandins upon human and rat erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 411(1):63–73.
- 40 Starzyk D, Korbut R, Gryglewski RJ (1999): Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro. *J Physiol Pharmacol* 50(4):629–37.
- 41 Andrews DA, Yang L, Low PS (2002): Phorbol ester stimulates a protein kinase C-mediated agatoxin-TK-sensitive calcium permeability pathway in human red blood cells. *Blood* 100(9):3392–9.
- 42 Klarl BA, Lang PA, Kempe DS, Niemoeller OM, Akel A, Sobiesiak M, és mtsai (2006): Protein kinase C mediates erythrocyte “programmed cell death” following glucose depletion. *Am J Physiol-Cell Physiol* 290(1):C244–53.

- 43 Manno S, Takakuwa Y, Mohandas N (2005): Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by protein 4.1 phosphorylation. *J Biol Chem* 280(9):7581–7.
- 44 Sheremet'ev YA, Popovicheva AN, Rogozin MM, Levin GY (2019): Red blood cell aggregation, disaggregation and aggregate morphology in autologous plasma and serum in diabetic foot disease. *Clin Hemorheol Microcirc* 72(3):221–7.
- 45 Baskurt OK, Meiselman HJ (2003): Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 29(5):435–50.
- 46 Tóth J, Debreceni IB, Deák Á, Pető K, Berhész M, Hajdú E, és mtsai (2017): Characteristics of thrombin generation in a fulminant porcine sepsis model. *Thromb Res* 158:25–34.
- 47 Mehri R, Mavriplis C, Fenech M (2015): Controlled Microfluidic Environment for Dynamic Investigation of Red Blood Cell Aggregation. *J Vis Exp* 4(100):e52719.
- 48 Ferdinand S, Connes P, Brudey L, Cita K-C, Tressières B, Lemonne N és mtsai (2015): Impact of eNOS polymorphisms on red blood cell aggregation in sickle cell disease. *Blood Cells Mol Dis* 55(2):151–3.
- 49 Wen J, Wan N, Bao H, Li J (2019): Quantitative Measurement and Evaluation of Red Blood Cell Aggregation in Normal Blood Based on a Modified Hanai Equation. *Sensors* 19(5):1095.
- 50 Grau M, Ibershoff L, Zacher J, Bros J, Tomschi F, Diebold KF, és mtsai (2022): Even patients with mild COVID-19 symptoms after SARS-CoV-2 infection show prolonged altered red blood cell morphology and rheological parameters. *J Cell Mol Med* 26(10):3022–30.
- 51 Baskurt OK, Meiselman HJ (2009): Red blood cell “aggregability.” *Clin Hemorheol Microcirc* 43(4):353–4.
- 52 Zhbanov A, Yang S (2015): Effects of Aggregation on Blood Sedimentation and Conductivity. *PLoS One* 10(6):e0129337.
- 53 Hayashi Y, Brun M-A, Machida K, Nagasawa M (2015): Principles of dielectric blood coagulometry as a comprehensive coagulation test. *Anal Chem* (19):10072–9.
- 54 Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK (2009): Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 41(3):179–88.
- 55 Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (2012): Measurement of red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (2012): Red Blood Cell Aggregation. Boca Raton, Fla. pp 63–132.
- 56 Bernát SI (1999): A klinikai haemorheologia alapjai. Kornétás Kiadó
- 57 Meiselman HJ (1981): Morphological determinants of red cell deformability. *Scand J Clin Lab Investig Suppl* 156:27–34.

- 58 Yilmaz F, Gundogdu M (2008): A critical review on blood flow in large arteries; relevance to blood rheology, viscosity models, and physiologic conditions. *Korea-Aust Rheol J* 20:197–211.
- 59 Bessis M, Weed RI, Leblond PF (2012): Red Cell Shape: Physiology, Pathology, Ultrastructure. Springer Berlin Heidelberg
- 60 Chien S (1987): Red Cell Deformability and its Relevance to Blood Flow. *Annu Rev Physiol* 49(1):177–92.
- 61 Mohandas N, Gallagher PG (2008): Red cell membrane: past, present, and future. *Blood* 112(10):3939–48.
- 62 Parrow NL, Violet P-C, Tu H, Nichols J, Pittman CA, Fitzhugh C, és mtsai (2018): Measuring Deformability and Red Cell Heterogeneity in Blood by Ektacytometry. *J Vis Exp* 131:56910.
- 63 Gutierrez M, Shamoun M, Seu KG, Tanski T, Kalfa TA, Eniola-Adefeso O (2021): Characterizing bulk rigidity of rigid red blood cell populations in sickle-cell disease patients. *Sci Rep* 11(1):7909.
- 64 Saha AK, Schmidt BR, Wilhelmy J, Nguyen V, Abugherir A, Do JK, és mtsai (2019): Red blood cell deformability is diminished in patients with Chronic Fatigue Syndrome. *Clin Hemorheol Microcirc* 71(1):113–6.
- 65 Nemeth N, Furka I, Miko I (2014): Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: an overview on our experimental surgical data. *Clin Hemorheol Microcirc* 57(3):215–25.
- 66 Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F (2013): Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J* 34(31):2436–43.
- 67 Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, és mtsai (2009): New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 42(2):75–97.
- 68 Hansen TD, Warner DS, Traynelis VC, Todd MM (1994): Plasma Osmolality and Brain Water Content in a Rat Glioma Model. *Neurosurgery* 34(3):505–11.
- 69 DiBartola SP (2012): Disorders of Sodium and Water. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice. Elsevier pp 45–79.
- 70 Stephens DB (1985): Effects of water availability on plasma protein and sodium concentration, haematocrit and plasma osmolality in the pig. *Q J Exp Physiol* 70(3):389–401.
- 71 Windberger U, Bartholovitsch A, Plasenzotti R, Korak KJ, 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):431–40.

- 72 Windberger U, Ribitsch V, Resch KL, Losert U (1994): The viscoelasticity of blood and plasma in pig, horse, dog, ox, and sheep. *J Exp Anim Sci* 36(2–3):89–95.
- 73 Plasenzotti R, Stoiber B, Posch M, Windberger U (2004): Red blood cell deformability and aggregation behaviour in different animal species. *Clin Hemorheol Microcirc* 31(2):105–11.
- 74 Toplan S, Dariyerli N, Özdemir S, Akyolcu MC, Hatemi H, Yigit G (2005): The Effects of Experimental Hypothyroidism on Hemorheology and Plasma Fibrinogen Concentration. *Endocrine* 28(2):153–6.
- 75 Smith JE, Mohandas N, Shohet SB (1979): Variability in erythrocyte deformability among various mammals. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 236(5):H725–30.
- 76 Franks S, Mccarthy MI, Hardy K (2006): Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int J Androl* 29(1):278–85.
- 77 Kavitha M, Devi MG, Puvaneswari N (2017): Clinical Presentation, Risk Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *J Clin Endocrinol Metab* 98(12):4565-92.
- 78 Rosenfield RL, Ehrmann DA (2016): The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocr Rev* 37(5):467–520.
- 79 ALhabardi NA, Al-Wutayd O, Eltayieb KM, Shiha YS, AL-Shafei AI, Adam I (2020): Peripheral hematological parameters in women with polycystic ovary syndrome. *J Int Med Res* 48(9):030006052095228.
- 80 Patel S (2018): Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 182:27–36.
- 81 Łebkowska A, Kowalska I (2015): [Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome.] *Endokrynol Pol* 68(1):74-78.
- 82 Blay SL, Aguiar J, Passos IC (2016): Polycystic ovary syndrome and mental disorders: a systematic review and exploratory meta-analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat* 12:2895–903.
- 83 Butterworth J, Deguara J, Borg C-M (2016): Bariatric Surgery, Polycystic Ovary Syndrome, and Infertility. *J Obes* 2016:1871594.
- 84 Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, és mtsai (2018): Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Oxf Engl* 33(9):1602–18.
- 85 Dapas M, Sisk R, Legro RS, Urbanek M, Dunaif A, Hayes MG (2019): Family-Based Quantitative Trait Meta-Analysis Implicates Rare Noncoding Variants in DENND1A in Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 104(9):3835–50.
- 86 Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R (2011): Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 7(4):219–31.

- 87 Roh EY, Yoon JH, Song EY, Kim JJ, Hwang KR, Seo SH, és mtsai (2017): Single nucleotide polymorphisms in the TGF- β 1 gene are associated with polycystic ovary syndrome susceptibility and characteristics: a study in Korean women. *J Assist Reprod Genet* 34(1):139–47.
- 88 Olszanecka-Glinianowicz M, Zachurzok A, Drosdzol-Cop A, Bożętowicz-Wikarek M, Owczarek A, Gawlik A, és mtsai (2016): Circulating Anti-Müllerian Hormone Levels in Daughters of Women with and without Polycystic Ovary Syndrome. *Horm Res Paediatr* 85(6):372–8.
- 89 Trikudanathan S (2015): Polycystic Ovarian Syndrome. *Med Clin North Am* 99(1):221–35.
- 90 Glintborg D, Rubin KH, Nybo M, Abrahamsen B, Andersen M (2018): Cardiovascular disease in a nationwide population of Danish women with polycystic ovary syndrome. *Cardiovasc Diabetol* 17(1):37.
- 91 Reed BG, Carr BR (2000): The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, és mtsai (szerk): Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com
- 92 Tasali E, Van Cauter E, Ehrmann DA (2008): Polycystic Ovary Syndrome and Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Med Clin* 3(1):37–46.
- 93 Zhang Y, Zhao W, Xu H, Hu M, Guo X, Jia W, és mtsai (2019): Hyperandrogenism and insulin resistance-induced fetal loss: evidence for placental mitochondrial abnormalities and elevated reactive oxygen species production in pregnant rats that mimic the clinical features of polycystic ovary syndrome. *J Physiol* 597(15):3927–50.
- 94 Mohácsi B, Almássy Zs, Szemán-Nagy A (2015): A policisztás ovárium szindróma pszichológiai megközelítése. Módszertani ajánlások és a fenotipikus csoportalkotás bevezetése. *Magy Pszichol Szle* 70(3):493–506.
- 95 Rassi A, Veras AB, dos Reis M, Pastore DL, Bruno LM, Bruno RV, és mtsai (2010): Prevalence of psychiatric disorders in patients with polycystic ovary syndrome. *Compr Psychiatry* 51(6):599–602.
- 96 Rosenfield RL (2015) The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *Pediatrics* 136(6):1154–65.
- 97 Lakatos P, Speer G (2009) Policisztás ovarium szindróma: gyakorlati útmutató. Semmelweis Kiadó
- 98 Ortega-González C, Luna S, Hernández L, Crespo G, Aguayo P, Arteaga-Troncoso G, és mtsai (2005): Responses of serum androgen and insulin resistance to metformin and pioglitazone in obese, insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 90(3):1360–5.
- 99 Paixão L, Ramos RB, Lavarda A, Morsh DM, Spritzer PM (2017): Animal models of hyperandrogenism and ovarian morphology changes as features of polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 15(1):12.

- 100 Kang X, Jia L, Shen X (2015): Manifestation of Hyperandrogenism in the Continuous Light Exposure-Induced PCOS Rat Model. *BioMed Res Int.* 2015:1–9.
- 101 Simmonds MJ, Milne N, Ong K, Brotherton E, McNamee AP, Horobin J, és mtsai (2016): Physical Properties of Blood Are Altered in Young and Lean Women with Polycystic Ovary Syndrome. *PLoS One* 11(11):e0167290.
- 102 Ghowsi M, Khazali H, Sisakhtnezhad S (2018): Evaluation of Tnf- α and Il-6 mRNAs expressions in visceral and subcutaneous adipose tissues of polycystic ovarian rats and effects of resveratrol. *Iran J Basic Med Sci* 21(2): 165–174.
- 103 Anzai Á, Marcondes RR, Gonçalves TH, Carvalho KC, Simões MJ, Garcia N, és mtsai (2017): Impaired branched-chain amino acid metabolism may underlie the nonalcoholic fatty liver disease-like pathology of neonatal testosterone-treated female rats. *Sci Rep* 13;7(1):13167.
- 104 Tamura N, Kurabayashi T, Nagata H, Matsushita H, Yahata T, Tanaka K (2005): Effects of testosterone on cancellous bone, marrow adipocytes, and ovarian phenotype in a young female rat model of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 84:1277–84.
- 105 Zhao H, Zhou D, Chen Y, Liu D, Chu S, Zhang S (2017): Beneficial effects of Heqi san on rat model of polycystic ovary syndrome through the PI3K/AKT pathway. *DARU J Pharm Sci* 11;25(1):21.
- 106 Wang D, Wang W, Liang Q, He X, Xia Y, Shen S, és mtsai (2018): DHEA-induced ovarian hyperfibrosis is mediated by TGF- β signaling pathway. *J Ovarian Res* 10;11(1):6.
- 107 Zhang H, Yi M, Zhang Y, Jin H, Zhang W, Yang J, és mtsai (2016): High-fat diets exaggerate endocrine and metabolic phenotypes in a rat model of DHEA-induced PCOS. *Reproduction* 151(4):431–41.
- 108 Tessaro I, Modina SC, Franciosi F, Sivelli G, Terzaghi L, Lodde V, és mtsai (2015): Effect of oral administration of low-dose follicle stimulating hormone on hyperandrogenized mice as a model of polycystic ovary syndrome. *J Ovarian Res* 6;8:64.
- 109 Mannerås L, Cajander S, Lönn M, Stener-Victorin E (2009): Acupuncture and exercise restore adipose tissue expression of sympathetic markers and improve ovarian morphology in rats with dihydrotestosterone-induced PCOS. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 296(4):R1124–31.
- 110 Mannerås L, Cajander S, Holmäng A, Seleskovic Z, Lystig T, Lönn M, és mtsai (2007): A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* 148(8):3781–91.
- 111 Sara L, Antal P, Masszi G, Buday A, Horvath EM, Hamar P, és mtsai (2012): Arteriolar insulin resistance in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 97(2):462–8.

- 112 Nádasy G, Antal P, Szekeres M, Monori-Kiss A, Horváth EM, Tőkés AM, és mtsai (2012): Arteriolar biomechanics in a rat polycystic ovary syndrome model - effects of parallel vitamin D3 treatment. *Acta Physiol Hung* 99(3):279–88.
- 113 Masszi G, Novak A, Tarszabo R, Horvath EM, Buday A, Ruisanchez E, és mtsai (2013): Effects of vitamin D3 derivative--calcitriol on pharmacological reactivity of aortic rings in a rodent PCOS model. *Pharmacol Rep* 65(2):476–83.
- 114 Dăneasă A, Cucolaş C, Lenghel LM, Olteanu D, Orăsan R, Filip GA (2016): Letrozole vs estradiol valerate induced PCOS in rats: glycemic, oxidative and inflammatory status assessment. *Reproduction* 151(4):401–9.
- 115 Reddy PS, Begum N, Mutha S, Bakshi V (2016): Beneficial effect of Curcumin in Letrozole induced polycystic ovary syndrome. *Asian Pac J Reprod* 5(2):116–22.
- 116 Kafali H, Iriadam M, Ozardalı I, Demir N (2004): Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease. *Arch Med Res* 35(2):103–8.
- 117 Yakubu MT, Olawepo FJ, Olayaki LA, Ibrahim OOK (2015): Mifepristone (RU486) Induces Polycystic Ovarian Syndrome in Female Wistar Rats with Features Analogous to Humans. *J Endocrinol Reprod* 19(1):40–51.
- 118 Mirabolghasemi G, Kamyab Z (2017): Changes of The Uterine Tissue in Rats with Polycystic Ovary Syndrome Induced by Estradiol Valerate. *Int J Fertil Steril* 11(1):47–55.
- 119 Brawer JR, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C (1978): Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat. *Endocrinology* 103(2):501–12.
- 120 Mesbah F, Moslem M, Vojdani Z, Mirkhani H (2015): Does metformin improve in vitro maturation and ultrastructure of oocytes retrieved from estradiol valerate polycystic ovary syndrome-induced rats. *J Ovarian Res* 14;8:74.
- 121 Lara HE, Dissen GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, és mtsai (2000): An Increased Intraovarian Synthesis of Nerve Growth Factor and Its Low Affinity Receptor Is a Principal Component of Steroid-Induced Polycystic Ovary in the Rat. *Endocrinology* 141(3):1059–72.
- 122 Mohammadi S, Kayedpoor P, Karimzadeh-Bardei L, Nabiuni M (2017): The Effect of Curcumin on TNF- α , IL-6 and CRP Expression in a Model of Polycystic Ovary Syndrome as an Inflammation State. *J Reprod Infertil* 18(4):352–60.
- 123 Ghafurniyan H, Azarnia M, Nabiuni M, Karimzadeh L (2015): The Effect of Green Tea Extract on Reproductive Improvement in Estradiol Valerate-Induced Polycystic Ovarian Syndrome in Rat. *Iran J Pharm Res* 14(4):1215–33.
- 124 Mohamadi S, Bardei LK, Hojati V, Ghorbani A, Nabiuni M (2017): Anti-Inflammatory Effects of Curcumin on Insulin Resistance Index, Levels of Interleukin-6, C-Reactive Protein, and Liver Histology in Polycystic Ovary Syndrome-Induced Rats. *Cell J* 19(3):425-433.

- 125 Ghowsi M, Khazali H, Sisakhtnezhad S (2018): The effect of resveratrol on oxidative stress in the liver and serum of a rat model of polycystic ovary syndrome: An experimental study. *Int J Reprod Biomed* 16(3):149–58.
- 126 Wu Y, Li P, Zhang D, Sun Y (2017): Metformin and pioglitazone combination therapy ameliorate polycystic ovary syndrome through AMPK/PI3K/JNK pathway. *Exp Ther Med* 15(2):2120-2127.
- 127 Osuka S, Nakanishi N, Murase T, Nakamura T, Goto M, Iwase A, és mtsai (2019): Animal models of polycystic ovary syndrome: A review of hormone-induced rodent models focused on hypothalamus-pituitary-ovary axis and neuropeptides. *Reprod Med Biol* 18(2):151–60.
- 128 Shi D, Vine DF (2012): Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. *Fertil Steril* 98(1):185-193.e2.
- 129 Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (2012): Alterations in red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (szerk): Red Blood Cell Aggregation. CRC Press pp 223–67.
- 130 Ajayi AF, Akhigbe RE (2020): Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertil Res Pract* 14;6:5.
- 131 Cora MC, Kooistra L, Travlos G (2015): Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicol Pathol* 43(6):776–93.
- 132 Somogyi V, Peto K, Deak A, Tanczos B, Nemeth N (2018): 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):127–40.
- 133 Rajan RK, M. SSK, Balaji B (2017): Soy isoflavones exert beneficial effects on letrozole-induced rat polycystic ovary syndrome (PCOS) model through anti-androgenic mechanism. *Pharm Biol* 55(1):242–51.
- 134 Dong Y, Jing T, Meng Q, Liu C, Hu S, Ma Y, és mtsai (2014): Studies on the Antidiabetic Activities of *Cordyceps militaris* Extract in Diet-Streptozotocin-Induced Diabetic Sprague-Dawley Rats. *BioMed Res Int* 2014:1–11.
- 135 Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, és mtsai (2009): Parameterization of red blood cell elongation index – shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest* 69(7):777–88.
- 136 Yalcin O, Uyuklu M, Armstrong JK, Meiselman HJ, Baskurt OK (2004): Graded alterations of RBC aggregation influence in vivo blood flow resistance. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 287(6):H2644–50.
- 137 Krüger-Genge A, Sternitzky R, Pindur G, Rampling M, Franke RP, Jung F(2019): Erythrocyte aggregation in relation to plasma proteins and lipids. *J Cell Biotechnol* 5(1):65–70.

- 138 Rampling MW, Meiselman HJ, Neu B, Baskurt OK (2004): Influence of cell-specific factors on red blood cell aggregation. *Biorheology* 41(2):91–112.
- 139 Windberger U, Baskurt OK (2007): Comparative hemorheology, In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW és Meiselman HJ (szerk): *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press. pp.:267–85.
- 140 Tomaiuolo G (2014): Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics* 8(5):051501.
- 141 Chien S, Usami S, Taylor HM, Lundberg JL, Gregersen MI (1966): Effects of hematocrit and plasma proteins on human blood rheology at low shear rates. *J Appl Physiol* 21(1):81–7.
- 142 Jung F, Seegert A, Roggenkamp HG, Mrowietz C, Nüttgens HP, Kiesewetter H, és mtsai (1987): [Simultaneous recording of hematocrit, erythrocyte aggregation and disaggregation: methodology, quality control and reference ranges]. *Biomed Tech* 32(5):117–25.
- 143 Pignon B, Jolly D, Potron G, Lartigue B, Vilque JP, Nguyen P, és mtsai (1994): Erythrocyte aggregation--determination of normal values. Influence of age, sex, hormonal state, oestroprogestative treatment, haematological parameters and cigarette smoking. *Nouv Rev Fr Hematol* 36(6):431–9.
- 144 Sandhagen B (1989): Analysis of haemorheological variables--methodology and reference values. *Ups J Med Sci* 94(1):81–7.
- 145 Jung F, Kiesewetter H, Roggenkamp HG, Nüttgens HP, Ringelstein EB, Gerhards M, és mtsai (1986): [Determination of reference ranges of rheologic parameters: study of 653 randomly selected probands of the Aachen district]. *Klin Wochenschr* 15;64(8):375–81.
- 146 Baskurt OK, Meiselman HJ (2007): Hemodynamic effects of red blood cell aggregation. *Indian J Exp Biol* 45(1):25–31.
- 147 Popel AS, Johnson PC (2005): Microcirculation and hemorheology. *Annu Rev Fluid Mech* 37(1):43–69.
- 148 Vervita V, Saltamavros AD, Adonakis G, Tsapanos V, Decavalas G, Georgopoulos NA (2009): Obesity and insulin resistance increase plasma viscosity in young women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 25(10):640–6.
- 149 Haydardedeoglu F, Haydardedeoglu B, Kozanoglu I, Tutuncu N, Anaforoglu I, Ertorer M (2014): High plasma viscosity may be a predictor of cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *IVF Lite* 1(2):100.
- 150 Laganà AS, Rossetti P, Buscema M, La Vignera S, Condorelli RA, Gullo G, és mtsai (2016): Metabolism and Ovarian Function in PCOS Women: A Therapeutic Approach with Inositols. *Int J Endocrinol* 2016:1–9.
- 151 Paul C, Laganà AS, Maniglio P, Triolo O, Brady DM (2016): Inositol's and other nutraceuticals' synergistic actions counteract insulin resistance in polycystic ovarian

- syndrome and metabolic syndrome: state-of-the-art and future perspectives. *Gynecol Endocrinol* 32(6):431–8.
- 152 Noroozzadeh M, Behboudi-Gandevani S, Zadeh-Vakili A, Ramezani Tehrani F (2017): Hormone-induced rat model of polycystic ovary syndrome: A systematic review. *Life Sci* 191:259–72.
 - 153 Barzegar MH, Khazali H, Kalantar SM, Khoradmehr A (2017): Effect of Citrullus colocynthis hydro-alcoholic extract on hormonal and folliculogenesis process in estradiol valerate-induced PCOs rats model: An experimental study. *Int J Reprod Biomed* 15(10):661–8.
 - 154 Komal F, Khan MK, Imran M, Ahmad MH, Anwar H, Ashfaq UA, és mtsai (2020): Impact of different omega-3 fatty acid sources on lipid, hormonal, blood glucose, weight gain and histopathological damages profile in PCOS rat model. *J Transl Med* 18(1):349.
 - 155 Nemeth N, Kiss F, Furka I, Miko I (2010): Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals. *Clin Hemorheol Microcirc* 45(2–4):263–72.
 - 156 Lara HE, Ferruz JL, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda SR (1993): Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* 133(6):2690–5.
 - 157 Centola GM (1978): Surface features of exfoliated vaginal epithelial cells during the oestrous cycle of the rat examined by scanning electron microscopy. *J Anat* 127(Pt 3):553–61.
 - 158 Ramadoss M (2016): Heart Rate Changes in Electroacupuncture Treated Polycystic Ovary in Rats. *J Clin Diagn Res* 10(3):CF01-3
 - 159 Zutphen LFM van, Baumans V, Beynen AC (szerk) (2001): Principles of laboratory animal science: a contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results. Elsevier
 - 160 Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC (2009): Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocr Rev* 30(5):465–93.
 - 161 Sukur YE, Balik Kivancli I, Ozmen B (2014): Ovarian aging and premature ovarian failure. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 15(3):190–6.
 - 162 Li Q, Geng X, Zheng W, Tang J, Xu B, Shi Q (2012): Current understanding of ovarian aging. *Sci China Life Sci* 55(8):659–69.
 - 163 Vollenhoven B, Hunt S (2018): Ovarian ageing and the impact on female fertility. *F1000Research* 7:1835.
 - 164 Anzalone CR, Hong L-S, Lu JKH, LaPolt PS (2001): Influences of Age and Ovarian Follicular Reserve on Estrous Cycle Patterns, Ovulation, and Hormone Secretion in the Long-Evans Rat. *Biol Reprod* 64(4):1056–62.

- 165 Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson B-M, Holmång A (2005): Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity. *Reprod Biol Endocrinol* 3(1):44.
- 166 Brun J-F, Varlet-Marie E, Myzia J, de Mauverger ER, Pretorius E (2021): Metabolic Influences Modulating Erythrocyte Deformability and Eryptosis. *Metabolites* 12(1):4.
- 167 Farber PL, Freitas T, Saldanha C, Silva-Herdade AS (2018): Beta-estradiol and ethinylestradiol enhance RBC deformability dependent on their blood concentration. *Clin Hemorheol Microcirc* 70(3):339–45.
- 168 Mester A, Magyar Z, Molnar A, Somogyi V, Tanczos B, Peto K, és mtsai (2018): Age- and gender-related hemorheological alterations in intestinal ischemia-reperfusion in the rat. *J Surg Res* 225:68–75.

10.2. 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/199/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Bedőcs-Baráth Barbara
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Baráth, B.**, Varga, Á., Mátrai, Á. A., Pocsai, K., Németh, N., Deák, Á.: Estradiol Valerate Affects Hematological and Hemorheological Parameters in Rats. *Metabolites*. 12 (7), 602, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo12070602>
IF: 5.581 (2021)
2. **Baráth, B.**, Somogyi, V., Tanczos, 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

További közlemények

3. Varga, Á., Mátrai, Á. A., **Baráth, B.**, Deák, Á., Horváth, L., Németh, N.: Interspecies Diversity of Osmotic Gradient Deformability of Red Blood Cells in Human and Seven Vertebrate Animal Species. *Cells*. 11 (8), 1-15, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells11081351>
IF: 7.666 (2021)
4. Gál, K., Veres, K., Halmi, S., Bozoki-Beke, K., Fekete, K., Homoki, J., Gálné Remenyik, J., **Baráth, B.**, Varga, Á., Németh, N., Soltész, P.: The effect of rheopheresis treatment on the cytokine profile in diabetic foot syndrome with hyperviscosity in the aspect of clinical changes: a preliminary study. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 80 (2), 117-125, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-211188>
IF: 2.411 (2021)





5. Szántó, S., Módy, T., Némethné Gyurcsik, Z., Babják, L. B., Somogyi, V., **Baráth, B.**, Varga, Á., Mátrai, Á. A., Németh, N.: Alterations of Selected Hemorheological and Metabolic Parameters Induced by Physical Activity in Untrained Men and Sportsmen. *Metabolites*. 11, 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11120870>
IF: 5.581
6. Körei, C., Szabó, B., Varga, Á., **Baráth, B.**, Deák, Á., Ványolos, E., Hargitai, Z., Kovács, I., Németh, N., Pető, K.: Hematological, Micro-Rheological, and Metabolic Changes Modulated by Local Ischemic Pre- and Post-Conditioning in Rat Limb Ischemia-Reperfusion. *Metabolites*. 11 (11), 776, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11110776>
IF: 5.581
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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





11. 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

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 42,699

**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 tudománymetriai
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján
elvégezte.

Debrecen, 2023.06.01.



11. TÁRGYSZAVAK

haemorheologia

hemorheology

vörösvérsejt aggregatio

red blood cell aggregation

vörösvérsejt deformabilitás

red blood cell deformability

fajok közötti különbségek

interspecies differences

mikrokeringés

microcirculation

policisztás ovárium szindróma

polycystic ovary syndrome

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Azért, hogy ez a disszertáció elkészülhetett, sokaknak tartozom köszönettel.

Elsősorban szeretném megköszönni Témavezetőmnek, **Dr. Deák Ádám** adjunktus Úrnak, aki már alap- és mesterképzésem alatt itt folytatott TDK munkám során is segített, támogatott és biztosította a jó hangulatot. A későbbiekben, PhD tanulmányaim megkezdése előtt és közben is bármikor fordulhattam hozzá, mindig nyitott volt az új ötletekre, így olyan kutatás lehetett alapja a disszertációmnak, amit tényleg teljes szívvel-lélekkel tudtam véghez vinni.

Köszönetem szeretném kifejezni **Prof. Dr. Németh Norbert** tanszékvezető Úrnak, aki évekkel ezelőtt megszerettette velem a haemorheológiát, TDK hallgatóként elindított és végig támogatott azon az úton, ami ehhez az értekezéshez vezetett.

Szeretném megköszönni **Prof. Dr. Mikó Irénnek** és **Prof. Dr. Furka Istvánnak** (1935-2021), hogy tanulhattam tőlük.

Nagyon köszönöm a temérdek segítséget, és őszinte barátságát **Dr. Somogyi Viktóriának**, aki bevezetett a laboratóriumi mérések rejtelseibe.

Szeretném megköszönni támogatását, segítségét, barátságát, a sok laborban töltött órát **Dr. Tánczos Bencének**, **Varga Ádámnak** és **Mátrai Ádámnak**, nélkülük nem sikerült volna eljutnom idáig.

Hatalmas köszönet illeti a Sebészeti Műtéttani Tanszék minden korábbi és jelenlegi munkatársát, aki közvetlenül, vagy közvetve segítségemre volt a PhD tanulmányaim alatt.

Köszönöm **Haramura Gizellának**, a Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék vezető laboratóriumi analitikusának, az ELISA mérésekhez nyújtott szakmai segítségét.

A szövettani vizsgálatok kivitelezésében nyújtott segítségéért hálával tartozom **Dr. Deák-Pocsai Krisztinának**.

Kiemelt köszönet illeti családtagjaimat, testvéreimet, de legfőképpen **Szüleimet**, akik mindig teljes vállszélességgel mellettem álltak, támogattak eddigi tanulmányaim során.

Köszönöm a kitartását, hogy mindig meghallgatott és ha kellett meg is nyugtatott, legjobb barátnőmnek, **Csemer Andreának**.

Hatalmas köszönetet érdemel **Férjem**, aki az elmúlt években a legnagyobb támaszom volt, aki egyetlen szóval képes megnyugtatni és meggyőzni, hogy nem adhatom fel.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni mindazoknak, akik kételkedtek bennem, és nem hitték, hogy sikerülni fog, ők voltak a legnagyobb motiválóim.

13. FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló *in extenso* közlemények másolatai