NÉMETH NORBERT

HAEMORHEOLOGIAI ALAPISMERETEK

egyetemi jegyzet

DUPress e-jegyzetek

DUPress e-jegyzetek

NÉMETH NORBERT

HAEMORHEOLOGIAI ALAPISMERETEK

egyetemi jegyzet

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2020

DUPress e-jegyzetek

Németh Norbert: Haemorheologiai alapismeretek
egyetemi jegyzet

Lektorálta:
Prof. Dr. Bogár Lajos, az MTA doktora
Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

ISBN 978 963 318 875 0

Kiadta: a Debreceni Egyetemi Kiadó, az 1795-ben alapított
Magyar Könyvkiadók és Könyvterjesztők Egyesülésének a tagja
dupress.unideb.hu
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
A nyomdai munkálatokat
a Debreceni Egyetem sokszorosítóüzeme végezte 2020-ban

DUPress e-jegyzetek

Tartalom

1. ELŐSZÓ 5
2. A HAEMORHEOLOGIA FOGALMA, DEFINÍCIÓK 7
3. A VÉR- ÉS NYIROKÁRAMLÁS ORVOSTÖRTÉNETI VONATKOZÁSAI 9
   - 3.1. A vér és a vérkeringés felfedezése, teóriái 9
   - 3.2. A nyirokrendszer felfedezése 19
   - 3.3. Tudományos társaságok 21
4. A VÉRKERINGÉS FIZIKAI, BIOMECHANIKAI VONATKOZÁSAI 23
5. HAEMORHEOLOGIAI PARAMÉTEREK 29
   - 5.1. Vér viszkozitás 29
   - 5.2. Plazma viszkozitás 31
   - 5.3. Vörösvérsejt deformabilitás 32
   - 5.4. Vörösvérsejt aggregatio 35
6. A MIKROKERINGÉS HAEMORHEOLOGIAI VONATKOZÁSAI 39
7. A NYIROKÁRAMLÁS RHEOLOGIÁJA 45
8. HAEMORHEOLOGIAI ÉS MIKROKERINGÉSI MÉRŐMÓDSZEREK 47
   - 8.1. A vér- és plazma viszkozitás meghatározásának módszerei 47
   - 8.2. A vörösvérsejt deformabilitás mérőmódszerei 49
     - 8.2.1. Filtrometria 51
     - 8.2.2. Hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria 52
     - 8.2.3. Vörösvérsejt membrán (mechanikus) stabilitási teszt 57
   - 8.3. A vörösvérsejt aggregatio meghatározásának módszerei 57
     - 8.3.1. Indirekt módszerek 57
     - 8.3.2. Fénytranszmissziós aggregometria 58
     - 8.3.3. Syllectometrián alapuló aggregometria 59
   - 8.4. A microcirculatio vizsgálata 60
9. KOMPARATÍV ÉS KÍSÉRLETES HAEMORHEOLOGIA 67
   - 9.1. Komparatív haemorheologia 68
     - 9.1.1. Faji különbségek 68

DUPress e-jegyzetek

9.1.2. Nemi különbségek 75
9.2. Módszertani szempontok, standardok 78
9.2.1. A vérvétel helye (arterio-venosus, porto-cavalis különbségek) 78
9.2.2. Anticoagulánsok hatása 80
9.2.3. Mintatárolás, mintakezelés 81
9.2.4. Mérőmódszerek speciális vonatkozásai 85
9.3. Experimentalis haemorheologiai elvek összegzése 86
10. HAEMORHEOLOGIAI VÁLTOZÁSOK PATHOPHYSIOLOGIAI FOLYAMATOKBAN, BETEGSÉGEKBEN 89
10.1. Haematologiai betegségek 89
10.2. Anyagcsere betegségek 92
10.3. Cardio- és cerebrovascularis kórképek 93
10.4. Daganatos kórképek 94
10.5. Sepsis 94
10.6. Ischaemia-reperfusio 96
10.7. Haemorheologiai eltérések és a haemostasis kapcsolata 104
10.8. Haemorheologiai változások mechanizmusainak összefoglalása 106
10.9. Anaesthesiologiai vonatkozások 107
10.10. Intravenás kontrasztanyagok haemorheologiai hatásai 107
11. TERÁPIÁS VONATKOZÁSOK 109
11.1. Általános szempontok 109
11.2. A vér viszkozitásra ható gyógyszerek és kezelési formák 109
11.3. A plazma viszkozitását csökkentő gyógyszerek és eljárások 110
11.4. A vörösvérsejt deformabilitását javító gyógyszerek 111
11.5. A vörösvérsejt aggregatióra ható gyógyszerek 111
11.6. Thrombocyta aggregatio gátló szerek 111
11.7. Sebészi eljárások, manőverek az ischaemia-reperfusio kóros haemorheologiai és microcirculatiós változásainak megelőzésére, mérséklésére 111
12. Forrás, válogatott irodalom 113

DUPress e-jegyzetek

1. Előszó

„Vérnek az a' veres, sükeres, és meleg nedveség neveztetik, melly a' szívben, életerekben, és vérerekben folydagol. Vérforgásnak az az éltető munka neveztetik, melly által a' vérnek a' sziven, életereken, és vérereken szünet nélkül tartó, és megint arra az helyre, a'honnét elment vólt, viszsza kerülő folyása gyakoroltatik." – Rácz Sámuel: A borbélyi tanításoknak első darabja, Pest, 1794. p. 105.

Napjainkra igen terjedelmes tudásanyag gyűlt össze a keringési rendszer anatómiájáról, élettanáról és kórélettanáról. Az erekben keringő vér elválaszthatatlan része e mechanizmusoknak, s bár a fenti idézetben foglaltakhoz képest ma már összehasonlíthatatlanul többet tudhatunk a vérről, mégis az áramlástani, rheologiai tulajdonságok számos megválaszolatlan kérdést vetnek még fel, amelyek a kutatómunkát mozdítják előre folyamatosan, újabb és újabb kérdést felvetve. *Panta rhei...*

Jelen monográfia tartalmi hátterét a 2007/2008-as tanév óta minden szemeszterben tartott „Haemorheologiai alapismeretek" szabadon választható tárgy és PhD kurzus, a 2013/2014-es tanév óta tartott „Vér- és nyirokáramlás reológiája" kötelező tárgy (ÁOK OKLA) előadásanyagai, valamint a 2016-ban készült MTA doktori értekezés és az azóta megjelent releváns munkák adják.

Ajánlom ezt a kötetet a fenti kurzusokra járó hallgatóknak, a véráramlással, mikrokeringéssel foglalkozó PhD hallgatóknak, s mindazoknak, akiknek figyelmét e téma, vagy valamelyik vetülete felkelti.

Debrecen, 2020. szeptember 7.

Prof. Dr. Németh Norbert

DUPress Előjegyzetek

DUPress e-jegyzetek

2. A Haemorheologia fogalma, definíciók

Rheologia (áramlástan) (Gr. rhoia- folyni, logos- valaminek a tudománya)
A különböző anyagok erőhatásra bekövetkező deformálódásával és folyási/áramlási tulajdonságaival foglalkozó tudományág (Eugene C. Bingham, 1929).

Biorheologia
A biológiai rendszerek, vagy biológiai jelentőségű anyagok rheologiája (Alfred L. Copley, 1948).

Haemorheologia
A vér sejtes és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheologiájának összefoglaló megjelölése (Alfred L. Copley, 1951).

Parahaemorheologia
Az interstitialis terek, azok tartalmának, valamint a nyirok és a nyirokérrendszer rheologiája (Siegfried Witte, 1982).

DUPress egyetemi jegyzetek

DUPress e-jegyzetek

3. A vér- és nyirokáramlás orvostörténeti vonatkozásai

3.1. A vér és a vérkeringés felfedezése, teóriái

A vér és a vérzés, az élet és a halál a keringési rendszer működésével, illetve leállásával való összefüggései az ókor, és talán a még régebbi korok embereit is intenzíven foglalkoztatták. A keringési rendszer anatómiája, élettana és kórélettana megismerésének több dogma kialakításával, elvetésével, újabb és újabb felfedezésekkel tarkított története sok századon keresztül húzódó folyamat volt *(I. táblázat)*.

Már az *ókori Egyiptomban* ismert volt, hogy a szívből erednek a fő erek. A sérülések vagy éppen orvosi beavatkozások révén adódó vérzés csillapításának lekötéssel (ligatúrával) való megoldása és tűzzel felforrósított eszközökkel való kauterizációja már abban az időben is ismert volt.

A mumifikálás mestersége ellenére anatómiai ismereteik korlátozottak voltak, orvosi célú boncolást nem végeztek. Az ereket, az inakat és az idegeket nem is különböztették meg egymástól, ugyanazt a fogalmat *(metu)* használták mindháromra. Elképzelésük szerint a metu-k szállították a levegőt, a vért, a vizet és a vizeletet, a különböző váladékokat és férfiakban az ondót is. Legfontosabb szervnek a szívet tartották (ezért hagyták benne a múmiákban), a belőle kiinduló 22 fő érrel: *„Az orvos..., aki a fejet, a tarkót, a kart, a hátat vagy a lábat megérinti, mindenütt a szívet érinti, mert belőle minden taghoz erek vezetnek."* (Ebers-papirusz, i.e. 1500 körül). A szív központi szerepe mellett azt gondolták, hogy egy másik kapcsolat is van a metu-k között az anus körül.

Felismerték tehát, hogy a nedvkeringés központja a szív, de azt gondolták, hogy a szív a véren kívül levegőt és vizet is továbbít az erekbe. Innen ered az ún. „pneuma-tan", mely szerint az artériák levegőt továbbítanak, s amely a görögök közvetítésével Európába került és a XVII. századig megmaradt.

Az *ókori kínai orvoslásban* nagy jelentőséget tulajdonítottak a pulzusnak. Hosszan és részletesen vizsgálták, 28 féle pulzus-típust ismertek.

Mintegy két és félezer éve az *ókori Görögországban* megfigyelték (haematoscopia), hogy a lebocsátott vér alkotóelemei idővel „szétválnak": felül a „sárga epe" (chole), ami gyakorlatilag a szérumot jelenti, alatta a mucus (phlegma),

DUPress előzetes

I. táblázat: A haemorheologia történetének főbb mérföldkövei, jelentősebb alakjai és vonatkozó megfigyelések, felfedezések

Ókor – XVII. század		**XVIII–XX. század**	
Ephesos-i Heracleitos (i.e. ? 500–460)	A *panta rhei* filozófiája.	John Hunter (1728–1793)	A gyulladás kórélettának elemzése.
Hyppocrates (i.e. 460–375)	A négy folyadék elmélet postulatuma.	William Hewson (1739–1774)	A fehérvérsejtek felfedezése.
Aristotheles (i.e. 384–322)	A szív pumpafunkciója.	Isaac Newton (1642–1727)	A klasszikus mechanika és dinamika alaptörvényei.
Calchedon-i Herophilus (i.e. 325–260)	Anatómiai leírások mellett, az érverés objektív számlálásához vízóra használata.	Daniel Bernoulli (1700–1782)	Az áramlási sebesség és a nyomásviszonyok kapcsolatát leíró törvény. Hidrodinamikai alapok.
Chios-i Erasistratus (i.e. 304–250)	Az artériás és vénás rendszer közötti különbségek és a nyíltvégű keringési rendszer (artériákban levegő) leírása.	Jean-Léonard Marie Poiseuille (1799–1869)	A körkeresztmetszetű csőben történő folyadékáramlás körülményeit magában foglaló alapegyenlet leírása.
Claudius Galenus (130–200)	Tizennégy évszázadon át uralkodó dogma a máj-központú keringési rendszerről.	Robin Fåhraeus (1888–1968)	A vérsüllyedés vizsgálatának klinikai gyakorlatba való bevezetése Westergen-nel együtt. A kis átmérőjű kapilláris csövekben áramló vér jellegzetességeinek, a látszólagos viszkozitás átmérővel való csökkenés leírása Lindqvist-tel együtt.
William Harvey (1578–1657)	A keringési rendszer korszerű leírása: kis- és nagy vérkör, a keringés központja a szív, a vénás billentyűk jelentősége, arteriás és vénás nyomás közötti különbségek megfigyelése.		
Marcello Malpighi (1628–1694)	A capillarisok tudományos leírása, a benne keringő globulusok első megfigyelése.	Alfred Levin Copley (1910–1992)	A biorheologia és a haemorheologia definiálása, nemzetközi társaság és tudományos folyóirat alapítása, vonatkozó kutatások, klinikai haemorheologiai vizsgálatok szervezése.
Robert Hooke (1635–1703)	A megnyúlási törvény leírása.		
Anthoni van Leeuwenhoek (1632–1723)	A vörösvérsejtek felfedezése és jellegzetességeik első megfigyelése.		

DUPress előnyzetek

amely a leukocytákban és thrombocytákban gazdag „buffy coat”-nak felel meg. Ez alatt rétegződik a vörösvérsejtek tömege által alkotott sanguis (haima). A legalsó réteg a denz vörösvérsejteket, az összehúzódott coagulumot és a belezárt vörösvérsejteket tartalmazó réteg, a „fekete epe” (melaine chole). Mai értelemben összevetve ezt egy anticoagulált és lecentrifugált vérmintával jól értelmezhetőek ezek a látványos párhuzamok.

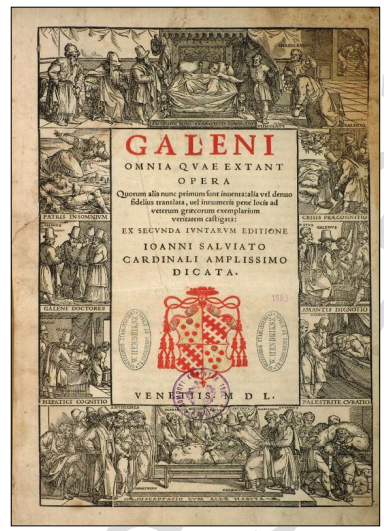
Az ókori görög medicinában, Hippocrates (i.e. 460–375) postulatumai szerint, e négy folyadékelem egyensúlya (eukrasia) az egészséget jelentette, egyensúlyzavara (dyskrasia), mennyiségi eltolódásai a betegség okozói vagy kísérőjelei voltak. Az egyensúlyzavar megoldására elsősorban a diéta játszott fontos szerepet, de több más módszer is ismeretes volt, mint a hashajtás, hánytatás vagy az érvágás. Utóbbi, a vérlebocsátás (venesectio), mint hypovolemiás haemodilutio, az elmúlt századokig egyik általános eszközét jelentette a klasszikus orvoslás folyadékegyensúly-zavarok megoldását célzó tevékenységeinek, s egyúttal a legősibb haemorheologiai terápiának tekinthető.

Aristotheles (i.e. 384–322) a szív pumpafunkcióját felismerve a keringés mechanikus központjának ismerte el. Praxagoras (i.e. 340) különböztette meg először az artériákat a vénáktól, előbbiek a nézete szerint pneumát, levegőt szállítottak.

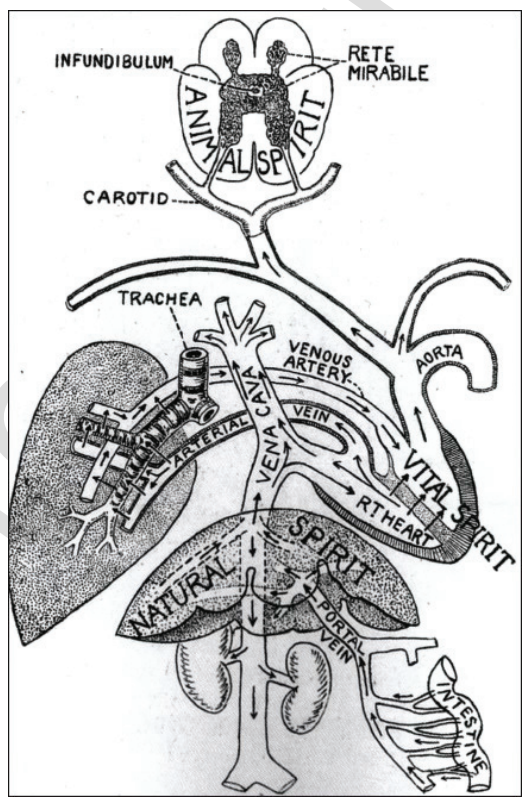
Erasistratus (i.e. 304–250) tanaiból ismert elképzelés szerint az arteriás ág levegővel teli rendszert jelentett. Azt a paradoxont, hogy az artériák megvágásával vérzés jelenik meg, azzal a magyarázattal oldotta fel, hogy a vénákból származó vér láthatatlan összeköttetéseken (syn-anastomosis) keresztül kerülhet az artériákba, amikor onnét a levegő kiürül. Gyulladás, pangás (plethora) során ezek az összeköttetések elképzelése szerint kitágulnak, és ilyenkor több vér jut át az artériás oldalra. A vérköpés okaként azt feltételezte, hogy a tüdőkben gyulladás, pangás révén túl sok vér gyűlik össze. Ilyenkor a betegeken végtaglekötéseket végzett, hogy a vér ott maradjon, és ne a tüdőben pangjon.

Galenus (130–200) *(1. ábra)* nevéhez fűződik az a dogma, amely szerint nem a szív, hanem a máj a keringés központja. Nézete szerint az artériákban vér és levegő is van, a szívben (interventricularis septum) pedig pórusok, amelyen keresztül áramlik a vér egyik szívfélből a másikba. Anatómiai, élettani ismeretei főleg majmok és sertések boncolásán alapultak (a római törvények tiltották human cadaverek boncolását). Teóriája szerint a belekből felszívódó anyagok a májba kerülnek, ahol természetes esszenciává alakulnak át (spiritus naturalis). Ez az anyag a májból elvezető ereken át kerül a test többi részébe, köztük a szívbe, ahol a kamrákat elválasztó falban lévő pórusokon át kerül a bal szívfélbe, ahol erővel telik meg (spiritus vitalis), majd az artériákon át jut el a test minden részébe. Az agyba bejutva az anyag egy része spiritus animalis-szá alakul át, ami aztán az

Dunszt Gyula



1. ábra: Claudius Galenus (130–200)
Galeni Omnia que extant opera. Ex secunda Iuntarum editione. Venetiis, 1550



2. ábra: Galenus teóriája a vér, és anyagok áramlásáról

DUPRA Tudástár

idegek mentén terjed tova *(2. ábra)*. Így zárt keringési rendszert nem feltételez. Ez a dogma uralkodott a nyugati orvoslásban mintegy tizennégy évszázadon át. Jelentősebb előrelépés hosszú ideig nem történt. A vérpangás kezelésére csak érmetszést, köpölyözést, piócákat alkalmaztak.

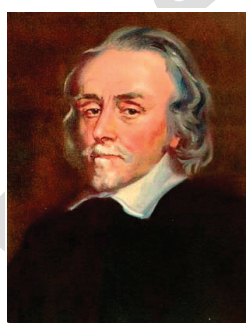
A XIII. században az arab tudós és orvos Ibn al-Nafis (1213–1288) munkásságában már feltételezi a kisvérkör meglétét, bár ennek bizonyítására még évszázadokat kellett várni. Azt feltételezte, hogy igen vékony összeköttetések, pórusok (manafidh arabul) lehetnek a tüdő artériái és vénái között, ezzel megelőlegezve Marcello Malpighi mintegy 400 évvel későbbi leírását a kapillárisokról.

Michael Servetus (1509–1553), aki teológusként a tudomány számtalan területén munkálkodott, Európában elsőként említette 1553-ban megjelent teológiai írásában a pulmonáris „keringést", miszerint a tüdőbe és onnét a szívbe nem levegő, hanem vér áramlik.

Az olasz anatómus, Matteo Realdo Colombo (1515–1559) nem fogadta el maradéktalanul a Galenus-i teóriát, mondván, hogy azok csak állatokon végzett boncolásából származnak, és így nem biztos, hogy igazak az emberre is. Az ereket és a szerveket egységként kezelte, a tüdő keringését (kisvérkör) leírta, különállónak ítélte.

Andrea Cesalpino (1519–1603), olasz orvos, filozófus és botanikus már a vér keringéséről ír, bár nézete szerint ez inkább egyfajta „kémiai cirkuláció" (a vér evaporációja és kondenzációja következtében).

A több mint 1400 évig uralkodó Galenus-i dogmát William Harvey (1578–1657) 1628-ban Frankfurtban megjelent *„Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et*

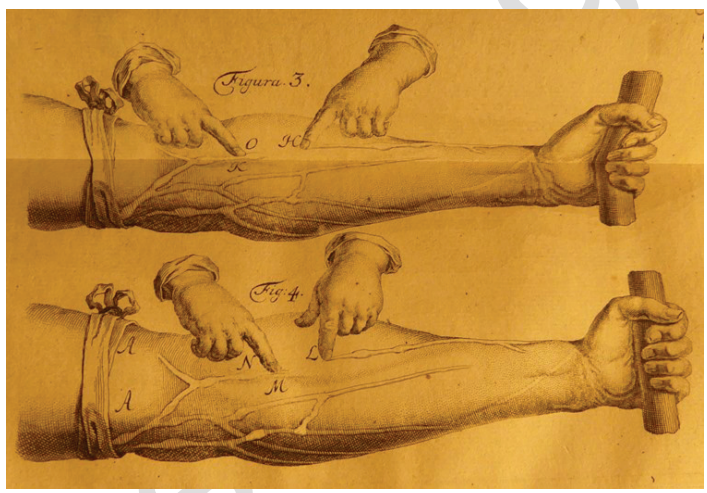


3. ábra: William Harvey (1578–1657)
Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus. Frankurt, 1628.

DUPLA SEJEGYZETEK

Sanguinis in Animalibus" című művével döntötte meg, definiálva a négyüregű szív –mint a keringés központja– mechanizmusát, a kis és nagy vérkört, a véráramlás irányát, a vénás billentyűk szerepét *(3. és 4. ábra)*. Megfigyeléseket tett továbbá az artériás és a vénás nyomás közötti különbségekre.

Állatok boncolása során írta le mindezeket. Kiszámolta a pulzusszám és a szív üregeinek térfogata alapján (pulzus-térfogat), hogy ha a Galenus-i dogma igaz lenne, akkor akár több száz liter vérnek kellene naponta újonnan termelődnie. Kell tehát egy olyan összeköttetés az artériás és a vénás rendszer között, ami zárt keringést biztosít. Az artériás és vénás rendszer közötti folytonossági kapcsolatra azonban nem talált bizonyítékot, összeköttetéseket (anastomosisokat) és a szövetekben lévő pórusokat feltételezett, amelyek a vér számára átjárhatóak.



4. ábra: A vénabillentyűk szerepének demonstrálása William Harvey *Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus* művéből

A hajszálereket először Leonardo da Vinci (1452–1519) figyelte meg firenzei titkos boncolásai során, ahogy a „húsban" hajszálra hasonlító ereket látott („vene chapillari").

A vérkeringés megismerésében jelentős szerepet játszott Andreas Vesalius (1514–1564) munkássága, az erek és a szív pontosabb anatómiai leírásával (*De humani corporis fabrica*, Basel, 1555; Jan van Calcar, Tiziano tanítványának rajzaival és metszeteivel).

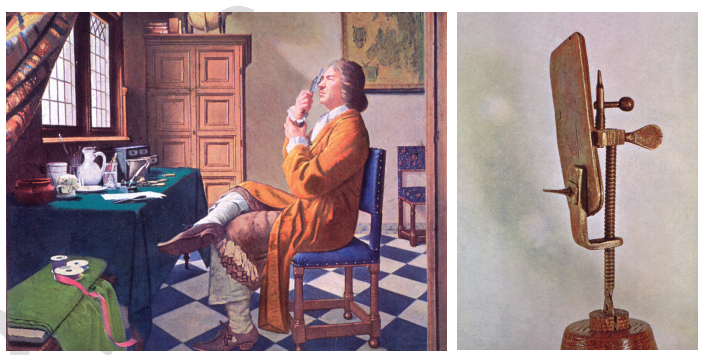
A capillarisok lényegi felfedezése Marcello Malphigi (1628–1694) nevéhez fűződik, aki az artériák és a vénák közötti direkt összeköttetésként írta le őket

DUPrea

(*De pulmonibus observationes anatomicae,* Bologna, 1661). A bennük keringő „globulusokat" zsírcseppeknek vélte.

A vörösvérsejtek leírása már Anton van Leeuwenhoek (1632–1723) nevéhez fűződik *(5. ábra)*. Az általa konstruált, apró nagyítólencsét tartalmazó kézi „mikroszkóp" segítségével sokféle anyagot, testváladékot és vért vizsgált a tudományos megismerés iránt érzett lelkesedésében, bár nem volt „hivatásos tudós". Megfigyeléseit 1674-ben közölte: *„...I have observed that the blood globules are much more pliable than I thought was ever possible. I have investigated these globules on various occasions and noticed that they can be elongated up to three times their original dimension without any break-up of the vesicles forming their surface. I also noticed that these blood globules, passing by and each other, could adopt many figures, thanks to their pliability, and that they retake their original globosity as soon as they get more room, and it has been an eminent pleasure to be a witness of this!..."* (*Microscopical observations concerning blood, milk, bones, the brain, spittle and cuticula.* Philosophical Transactions, Royal Society, London, 1674;9: 121–128.).

A ma ismert haemorheologiai paraméterek tekintetében szemléletes leírása ez a vörösvérsejtek deformabilitásának és aggregatiójának. Leeuwenhoek megfigyelte, hogy lázas, beteg emberből vagy várandóstól származó vérmintában a „globulusok" összecsapzódása kifejezettebb, mint az egészségesek vérében. Leírása szerint a vörösvérsejt nagysága (átmérője) 1/3000 hüvelyk, azaz 8,5 µm.



5. ábra: Anthon van Leeuwenhoek és az általa készített nagyító szerkezet

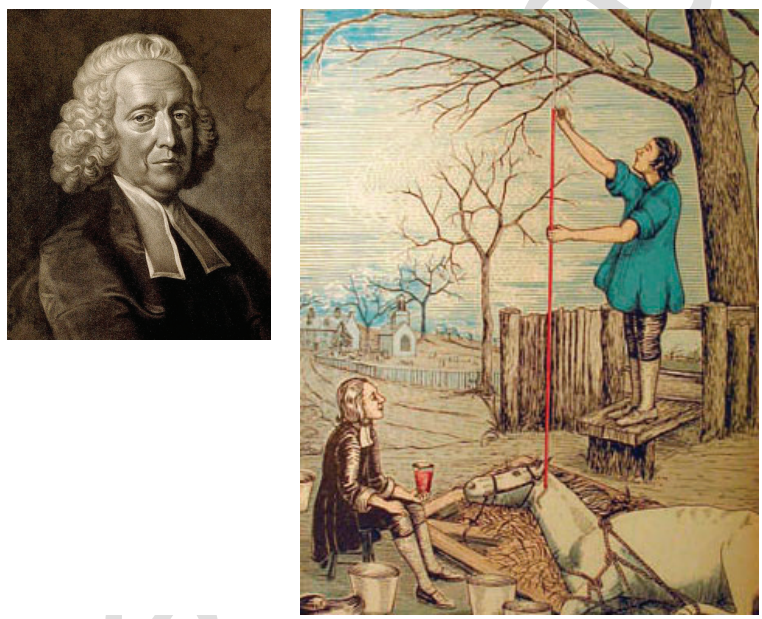
Újabb mérföldkőnek számított a skót sebész, John Hunter (1728–1793) munkássága a keringés és gyulladás kórélettana terén (*A Treatise on the Blood, Inflammation and Gunshot Wounds*. London, 1794). Megerősítette, hogy a „vörös corpusculumok" egymáshoz kötődése sokkal nagyobb mértékű gyulladás során.

DUPLA Egyetemi Jegyzetek

Az ő tanítványa volt William Hewson (1739–1774), akinek nevéhez a fehérvérsejtek felfedezése kötődik 1770-ben. Emellett izolálta a fibrint, funkcionálisan magyarázta a nyirokerek jelenlétét.

A XVII. század második felétől a XIX. századig számos felfedezés, matematikai és fizikai törvény megalkotása is kapcsolódik a rheologia fejlődéséhez (Pascal, Hooke, Newton, Bernoulli, Poiseuille), amelyeket a fizikai alapokkal foglalkozó fejezet érint.

A vérnyomást elsőként az angol lelkész és tudós Stephen Hales (1677–1761) mérte állatok (ló, kutya) nyaki verőrébe vezetett csővel, megfigyelve, hogy a véroszlop milyen magasra tör fel a tubusban *(6. ábra)*. A „vér erejét" mérő módszert és eredményeit az 1733-ban megjelent *Haemastaticks* című művében írta le.



6. ábra: Stephen Hales (1677–1761) és az első direkt vérnyomásmérés ábrázolása az 1733-ban megjelent munkája alapján

A véráramlástan szempontjából a fizikai felfedezések után jelentős mérföldkő volt Robert (Robin) Sanno Fåhraeus (1888–1968) svéd patológus, haematologus munkássága. Leeuwenhoek és Hunter megfigyeléseit folytatva a vérsüllyedés vizsgálatának jelentőségét mutatta meg, Alf Vilhelm Westergren-nel (1891–1968) együtt bevezetve ezt a módszert a klinikai gyakorlatba 1921-ben. Az erythrocyta sedimentatiós ráta (ESR) módszerét néhány évtizeddel korábban a lengyel orvos, Edmund Faustyn Biernacki (1866–1911) 1897-ben alkalmazta először.

DUPre nyzetek

A módszert Fåhraeus és Westergren publikációi után ismerték el szélesebb körben. Fåhraeus másik fontos hozzájárulása a haemorheologia fejlődéséhez a kisátmérőjű üvegkapillárisokban való véráramlási sajátságok megfigyelése volt, amely szerint a vér látszólagos viszkozitása a kapilláris átmérőjével csökken egészen a vörösvérsejtek átmérőjének megfelelő csőátmérőig, majd meredeken nő (Fåhraeus-Lindqvist effektus). Áramlástani magyarázatát a következő fejezetek érintik.

3.2. A nyirokrendszer felfedezése

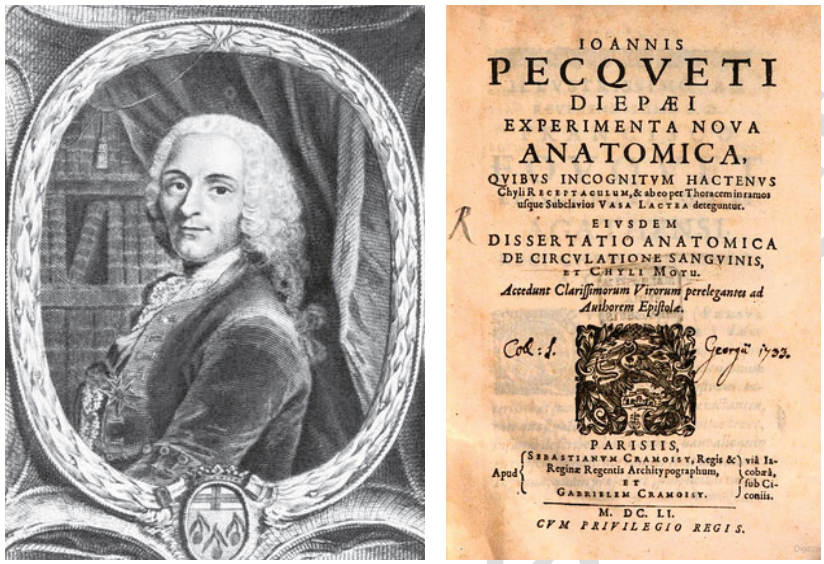
Az artériák és a vénák rendszerének, felépítésüknek és működésüknek tisztázása mellett a nyirokrendszer felfedezése csak a XVII. században kezdődött meg.

Elsőként említendő Gaspare Aselli (1581–1625), olasz anatómus és sebész professzor munkássága, aki felfedezte a hasüreg nagy nyirokereit. 1622-ben kutyák vivisectiója során a has megnyitásánál gyakran látta, hogy a belek mesentériumában fehéres érszerű képletek húzódnak, amelyek megsértésük során krémszerű folyadékot ürítenek. Ezeket az „ereket" venae albae at lacteae-nek nevezte el. A munkája postumus jelent meg (*De Lactibus sive Lacteis Venis*, 1627) *(7. ábra)*.

7. ábra: Gaspare Aselli (1581–1625) és műve, a *De Lactibus sive Lacteis Venis* (1627).

A francia tudós, Jean Pecquet (1622–1674) nevéhez fűződik a cysterna chyli (receptaculum chyli, Pecquet cysta) és a ductus thoracicus leírása (*Dissertatio Anatomica de Circulatione Sanguinis et Chyli Motu*, 1653; *De Thoracicis Lacteis*, 1653) *(8. ábra)*.

DUF e-jegyzetek



8. ábra: Jean Pecquet (1622–1674) és a *Dissertatio Anatomica de Circulatione Sanguinis et Chyli Motu* (1653) című művének címlapja

9. ábra: Paolo Mascagni (1755–1815) és a *Vasorum lymphaticorum corporis humani historia et ichnographia* (1787) című műve

DUE Repozitórium

A nyirokremdszer első komplett leírása az olasz anatómus, Paolo Mascagni (1755–1815) nevéhez fűződik (*Vasorum lymphaticorum corporis humani historia et ichnographia,* 1787) *(9. ábra)*.

A nyirokképződés mechanizmuásnak leírása azonban még egy évszázadot váratott magára. A mára jól ismert alapmechanizmust (effektív filtrációs nyomás, Starling-erők) Ernest Henry Starling (1866–1927) írta le (On the absorption of fluid from the connective tissue spaces. J. Physiol. 1896;19:312-326.).

3.3. Tudományos társaságok

A haemorheologia XX. századi fejlődésében fontos tényező volt a szervezett rheologiai kutatások kezdete, amely az amerikai The Society of Rheology 1929-es megalapításának idejére tehető. Az első nemzetközi rheologiai kongresszust 1948-ban tartották. Alfred Levin Copley (1910–1992), amerikai haematologus (L. Alcopley művésznéven absztrakt expresszionista festőművész) a biorheologiát 1948-ban, a haemorheologiát 1951-ben definiálta. 1966-ban megalapította az International Society of Hemorheology-t, amely nevét 1969-ben International Society of Biorheology-ra (ISB) változtatták. Alapító szerkesztője volt a *Biorheology* és a *Clinical Hemorheology* (mai nevén: *Clinical Hemorheology and Microcirculation*) című tudományos folyóiratoknak, amelyek azóta is teret adnak e tudományterület eredményeinek publikálására.

A biorheologia és a haemorheologia máig fejlődő területet jelent, amelyet az ISB mellett számos nemzeti és nemzetközi tudományos társaság is éltet. A European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation (ESCHM) első kongresszusát a franciaországi Nancy-ben tartotta 1979-ben. Az International Society for Clinical Hemorheology (ISCH) 1993-ban alakult meg az európai társaság 8., bécsi kongresszusán. A Magyar Haemorheologiai Társaság 1993-ban alakult meg Pécsett.

Az 1960–1980 közötti időszak a vér vizsgálatára alkalmas viszkoziméterek megjelenésével és a filtrációs módszerek kifejlesztésével nagy lendületet adott a klinikai és alapkutatásoknak egyaránt. Az utóbbi két évtizedben további felpezsdülés látszik a modern micro-rheologiai mérőműszerek és laboratóriumi technikák kifejlesztése révén.

DUPress egyetemi kiadvány

DUPress e-jegyzetek

4. A vérkeringés fizikai, biomechanikai vonatkozásai

A fizikai tudományok fejlődése fontos kapcsolatot jelent a haemorheologia történetével is. Fizikai megközelítésből a rheologia megértéséhez a kontinuum mechanika, a szilárd test mechanika, a folyadékok mechanikája (áramlástan), a hidrosztatika, a rugalmasság (elaszticitás), képlékenység (plaszticitás), nem-newtoni és newtoni folyadékok tulajdonságainak megismerése alapvetően hozzájárult. Eugene Cook Bingham (1878–1945) meghatározása szerint a rheologia a különböző anyagok erőhatásra bekövetkező deformálódásával és folyási tulajdonságaival foglalkozó tudományág.

A legjelentősebb felfedezések és törvények közül az elsők közt fontos megemlíteni Blaise Pascal (1623–1662) munkásságából a hidrosztatika alaptörvényét ($P_2–P_1 = -\rho g(h_2–h_1)$, ahol P_2 és P_1 a folyadékoszlop h_2 és h_1 magasságában lévő nyomása, ρ a folyadék sűrűsége, g a nehézségi gyorsulás), és Robert Hooke (1635–1703) megnyúlási törvényét ($\sigma = E\varepsilon$, ahol σ a mechanikai feszültség, E az elasztikus [Young-] modulus, ε a fajlagos megnyúlás) az ideálisan rugalmas, ideálisan elasztikus anyagok jellemzésére.

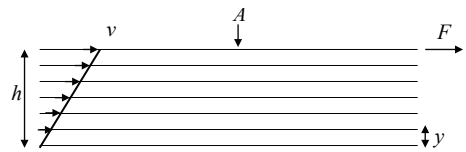
A mechanika alaptörvényeit, mint a tömeggel rendelkező testek mozgását leíró törvényeket (1-4) és a dinamika alapegyenletét Sir Isaac Newton (1642–1727) írta le a *„Philosophiae Naturalis Principia Mathematica”* című művében (London, 1687) a tér, az idő, a tömeg, a sebesség, a gyorsulás, az impulzus és az erő összefüggéseiben. Newton adta meg a viszkozitás első értelmezését is.

A folyadékok mozgását leíró modellek közül a legelterjedtebb a lamináris, réteges áramlást feltételező modell. E szerint a gáz vagy folyadék végtelen számú, egymással párhuzamos rétegekkel jellemezhető. Az egymástól adott távolságra (h, y) lévő rétegek adott felületére (A) ható tangenciális erő (F) egységnyi sebességű (v) elmozdulást idéz elő *(10. ábra)*. Ezek alapján értelmezhető a nyírófeszültség ($\tau = F/A$ [Pa vagy dyn/cm^2]), a sebesség-gradiens ($D = \partial v/\partial h$ [s^{-1}]) és ezek kapcsolatát adó (dinamikus) viszkozitás ($\eta = \tau/D$ [mPas vagy cP]).

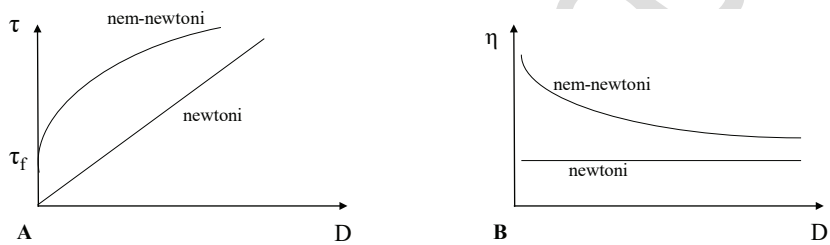
A valódi folyadékok közül newtoninak nevezhető az, amelynél igaz, hogy a nyírófeszültség és a sebesség-gradiens viszonya lineáris, ezáltal a viszkozitás független a sebesség-gradienstől vagy a nyírófeszültségtől. Ilyenek a homogén folyadékok, mint a víz, az olajok, általában az oldatok, a biológiai folyadékok

Dunaújvárosi Egyetem

közül például a plazma. Nem-newtoni folyadékok esetén, mint amilyen a vér is, τ és D kapcsolata nem lineáris, a viszkozitás sebesség-gradiens-függő. Emellett szükséges egy adott mértékű erő, amelynek hatására az áramlás egyáltalán megindul. Ezt küszöbfeszültségnek nevezik *(11. ábra)*.



10. ábra: Az egymástól adott távolságra (h, y) lévő párhuzamos folyadékrétegek A felszínére ható F erő hatására való elmozdulásának (v) sematikus ábrázolása



11. ábra: Newtoni és nem-newtoni folyadékok jellegzetes nyírófeszültség (τ) – sebesség-gradiens (D) (A) és viszkozitás (η) – sebesség-gradiens kapcsolata (B). τ_f = küszöbfeszültség

Az áramlási sebesség, a nyomásgrádiens, a csőhossz, átmérő és a benne áramló folyadék viszkozitásának összefüggéseit Jean Leonard Marie Poiseuille (1797–1869) fiziológus és orvos által 1846-ban alkotott egyenlet adja meg. Poiseuille-től teljesen függetlenül a német fizikus, Gotthilf Hagen (1797–1884) is megalkotta az egyenletet. Az összefüggés szerint egy csőben a folyadék áramlási sebessége (Q) egyenesen arányos a cső két vége között fennálló nyomásgrádienssel (Δp), a cső sugarának (r) negyedik hatványával, és fordítottan arányos a cső hosszával (l) és a folyadék viszkozitásával (η):

$$Q = \Delta p r^4 \pi / 8 l \eta$$

A Poiseuille-törvény feltételei a lamináris áramlás megléte, newtoni folyadék, egyenes, merev falú, cilindrikus és konstans átmetszetű cső.

Az áramlási ellenállás (az Ohm-törvény analógiájára) kifejezhető a nyomásgrádiens és az áramlás hányadosaként:

$$R = \Delta p / Q$$

DUPress Gyűjtemény

A folyadékok áramlástanában a kontinuitás egyenlet szerint az áramló folyadékoszlop keresztmetszete (A) és áramlási sebességének (v) szorzata állandó, azaz szűkebb keresztmetszet esetén az áramlási sebesség növekszik.

Az áramlási sebesség és a nyomásviszonyok összenyomható (gázok) és összenyomhatatlan (folyadékok) közeg esetében fennálló kapcsolatát leíró törvényt Daniel Bernoulli (1700–1782) alkotta meg, és 1738-ban a *„Hydrodynamica sive de viribus et motibus fluidorum commentarii"* című könyvében közölte. Bernoulli törvénye kimondja, hogy egy közeg áramlásakor a sebesség növelése a nyomás csökkenésével jár, azaz egy áramló közegben az áramvonal mentén a különböző energiaösszetevők összege állandó az alábbi egyenletek szerint:

– összenyomhatatlan közeg esetén: $v^2/2 + gh + p/\rho = b$
– összenyomható közeg esetén: $v^2/2 + \varphi + \omega = b$

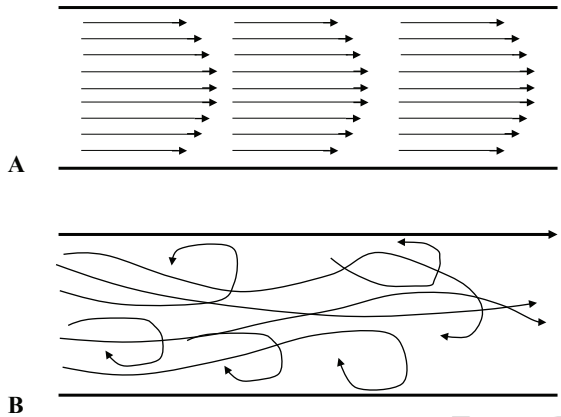
ahol b konstans, a Bernoulli állandó, v = közeg sebessége az áramvonal mentén, g = nehézségi gyorsulás, h = magasság tetszőleges ponttól a gravitáció irányában, p = nyomás az áramvonal mentén, ρ = a közeg sűrűsége, φ = az egységnyi tömegre eső helyzeti energia, $\varphi = gh$ állandó nehézségi gyorsulás esetén, ω = a közeg egységnyi tömegére eső entalpiája.

Fontos tisztázni a lamináris áramlás fogalmát egyes törvényszerűségek értelmezéséhez. Ha egy merev falú csőben a folyadék rétegesen áramlik, a részecskék mozgási iránya az áramlással párhuzamos (mintha végtelen számú koncentrikus cső mozogna), de a fal-folyadék és a folyadékrétegek közötti súrlódás miatt a különböző rétegek sebessége az áramlás közeghatárához mért távolságtól függően különböző, a legnagyobb az áramlás axisában, ideálisan lamináris áramlásról beszélünk. Abszolút ellentéte a turbulens áramlás, amely során a rétegek keverednek, áramlási irányukban a káosz mértéke, az entrópia nő *(12. ábra)*.

Az áramvonalak érintője megmutatja az áramlási sebesség irányát adott pontban. Az áramvonalak sűrűsége az áramlási sebesség nagyságát határozza meg. A csőfal közelében, ahol kisebb az áramlási sebesség, jellemzően lamináris az áramlás, míg a cső belsejében, a tengelye közelében nagyobb az áramlási sebesség, sűrűbbek az áramvonalak, így az áramlás rendezettsége is kisebb, turbulens jellegű.

Az áramlási profil kialakulásához (például egy oldalágba való beömlés pontjától) szükség van időre, azaz az áramlás közben egy bizonyos megtett távolságra. Ez az úgynevezett belépési hossz (entrance length, L_e). Osborne Reynolds (1842–1912) 1883-ban megállapította, hogy az áramlási profilban szabálytalanságok, örvények csak egy bizonyos sebesség fölött jönnek létre. Ennek mértéke,

DUPress e-jegyzetek



12. ábra: A lamináris áramlás (parabolikus áramlási sebesség-profil (A) és a turbulenciát mutató, szabálytalan áramlási profil (B) sematikus ábrázolása.

a róla elnevezett dimenzió nélküli Reynolds-szám (*Re*) az alábbi egyenlet szerint határozható meg, amelyet már Sir George Gabriel Stokes (1819–1903) (Navier-Stokes egyenlet) is feltételezett:

$$Re = \rho v d / \eta$$

ahol d a cső átmérője, v az áramlási sebessége, ρ a folyadék sűrűsége, és η a viszkozitása.

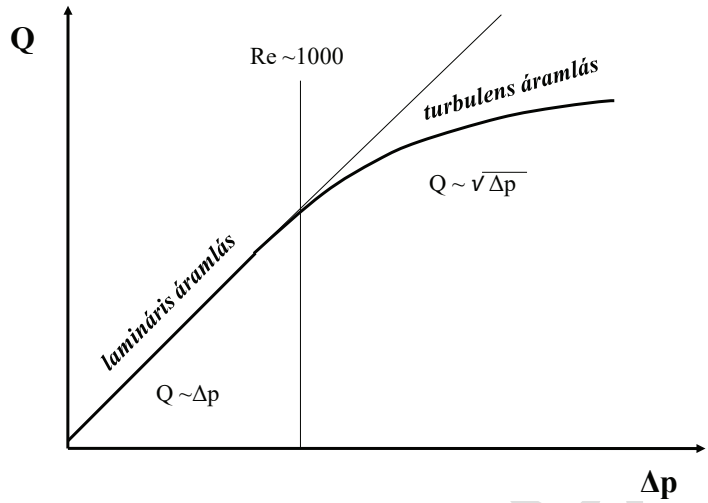
A *Re* ismeretében az L_e kiszámítható lamináris áramlásra (L_e=0,06 × d × *Re*), illetve turbulens áramlásra (L_e = 0,693 × d × $Re^{1/4}$).

A turbulencia kezdete 2100 feletti *Re* esetére tehető (tranzicionális áramlás: *Re* ~2100-4000), a teljesen kifejlődött turbulens áramlás *Re* >10^4 mellett jelentkezik. Valódi turbulencia az érrendszerben fiziológiás körülmények között nem tud kialakulni. Egy bizonyos sebesség felett (kritikus sebesség, v_{krit}) az áramlás tehát turbulenssé válik. Ez függ a folyadék viszkozitásától (η), sűrűségétől (ρ) és a cső sugarától (r):

$$v_{krit} = Re\, \eta \rho r$$

A Δp versus Q függvény hozzávetőlegesen 1000 Re alatt lineáris. Efelett a görbe már kezd ellaposodni *(13. ábra),* azaz a nyomásgrádiens növelésével az áramlás nem azonos mértékben nő. Másképpen megfogalmazva: turbulenciák megjelenésével, a nyomás emelkedésével, az áramlási ellenállás nagyobb mértékben fokozódik. Dimenzió nélüli áramlásdinamikai paraméter a Dean-szám (William Reginald Dean, 1896–1973). Ha a folyadék olyan csőben áramlik (laminárisan), amely elkanyarodik, a centripetális erő hatására a folyadék és a benne lévő particulumok mozgási iránya is változik. A görbület által generált adverz

DUPress e-jegyzetek



13. ábra: A turbulenciák megjelenésének hatása a nyomásgrádiens (Δp) és az áramlás (Q) kapcsolatára (Monos E. nyomán, 2018)

nyomásgrádiens hatására csökken az áramlási sebesség a konvex oldalon, míg növekszik a konkáv oldalon. Ennek hatására a cső közepén áramló folyadékrétegek és particulumok a kanyar külső oldala felé mozdulnak, a cső falához közeli folyadékrétegek pedig befelé, létrehozva a Dean-féle örvényeket. A Dean-szám (Dn) az alábbi egyszerűsített összefüggéssel írható le:

$$Dn = Re\sqrt{D/2R_c} \text{ vagy } Dn = 4Re\sqrt{2D/d}$$

ahol *Re* a Reynolds szám, *D* a cső átmérője, R_c a csőkanyarulat sugara, illetve d a görbület átmérője. Ha a Dn kisebb, mint 10, a szekunder áram elhanyagolható, 500 feletti Dean-szám már patológiás állapotra utal.

Megemlítendő még a Magnus-effektus (Heinrich Magnus, 1853), amely akkor lép fel, ha egy forgó test halad a közegben és a haladási irányára merőlegesen ható erő abba az irányba mutat, ahol a forgó test felületén a legnagyobb a közeg helyi sebessége. Az effektus legismertebb következménye a „nyesett labda" pályája, amikor a labdát úgy rúgják el, hogy közben pördül is, így a pályája az adott síktól oldalirányban is eltér. A keringésben áramló vérsejtekre is hat ilyen erő. A keringésben a pulzatilitás hatása is megjelenik az áramlási profil alakításában, egyre gyengülő mértékben a kapillárisok irányában. Jellemzésére egy további paraméter, a John Ronald Womersley (1907–1958) nevéhez fűződő Womersley-szám (α) ismert:

$$\alpha = R\,(\omega\rho/\eta)^{1/2}$$

ahol *R* a rádiusz, ω a szívfrekvencia, ρ a vér denzitása, η a vér viszkozitása. A Womersley-szám az aorta szakaszain ~14 (aorta ascendens) és ~8 (aorta

DUPLA Jegyzetek

abdominalis) között változik, a terminális artériáknál 1-hez közelít. Az arteriolában, capillarisokban és a venulákban jellemzően 1 alatti értékeket vesz fel. Minél magasabb az α (>10), annál inkább a pulzációs erők dominálnak, míg alacsony α (<1) esetén a viszkózus erők.

Említést kell még tenni a nyomás-oszcillációkról, amelyek különböző frekvencia-komponensekből tevődnek össze. Az elsőrendű (pulzációs) hullámok a szívverés által keltett közvetlen hullámok, az említett pulzatilitás képében. A másodrendű hullámok a légzéssel szinkron keletkeznek (normálértéke 14–16/perc), amikor az inspiráció során, annak végéhez közelítve hozzávetőlegesen 10 Hgmm-rel emelkedik az artériás középnyomás. A harmadrendű vérnyomáshullámok (Traube-Hering-Mayer hullámok) az ér-simaizom tónus változásai révén keletkeznek, így az agytörzsi vasomotor központ gerjeszti (emberben ~0,01 – 0,1 Hz, rágcsálókban magasabb: 0,3-0,4 Hz).

A véráramlás jellemzőit nemcsak a keringő vér tulajdonságai, hanem az érrendszer geometriája, annak szabályozási mechanizmusai és az érfal passzív biomechanikája is meghatározza. Ezt az erek geometriája mellett az érfal összetétele, a simaizmok aránya és elrendeződése (merevség, E ~ 0,05 kPa), az elasztin (E ~ 0,1 kPa), de legfőképpen a kollagén tartalom és szerkezet befolyásolja (E ~ 10 kPa). Az érfal rugalmas ellenállását az elasztikus modulussal jellemzik, ami a tangenciális, azaz az erekben circumferenciális (körfogat-menti) irányú rugalmas feszültség és a relatív megnyúlás hányadosa. A circumferenciális feszültség a Laplace-Frank egyenlet értelmében egyenesen arányos a transmuralis nyomással (az intravascularis és az extravascularis nyomás különbsége) és a belső sugárral, és fordítottan arányos az érfal vastagságával. A rugalmas feszültség és a megnyúlás összefüggése nem lineáris, ezért szakaszosan, incrementálisan kell számítani.

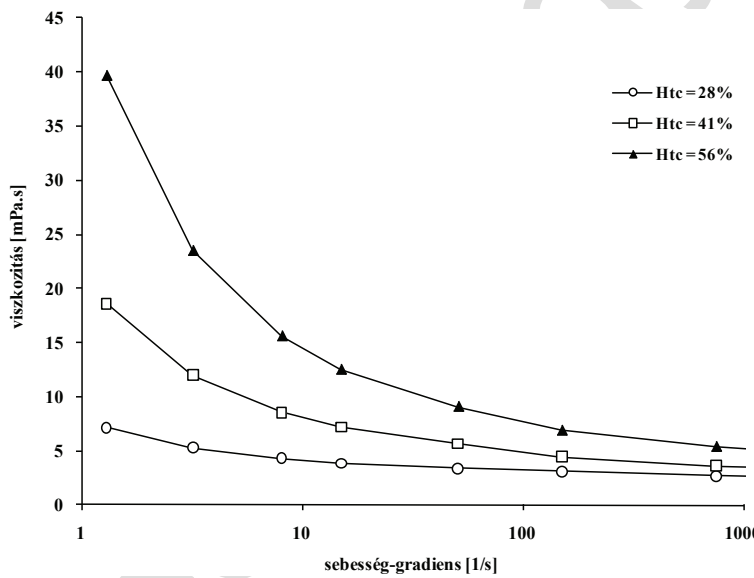
Az eddigiekből jól látszik, hogy a vérkeringés biomechanikája és ezen belül a vérviszkozitás hatása összetett. Normál körülmények között az áramlási sebesség fő meghatározói a nyomásgrádiens és az érátmérő változása. Kóros körülmények között, amikor az erek vasoconstrictiós-dilatatiós tartománya beszűkül, hemodinamikai instabilitás áll fenn, a vér viszkozitása erőteljesebb tényezővé válik. Azonban az erek fala nem merev (kivéve adott szakaszokon pl. előrehaladott scleroticus folyamatok esetén), a vér nem newtoni folyadék, az erek nem egyenesek, az érátmetszet talán sohasem szabályos cilindrikus, de semmiképpen sem konstans. Elágazások, anastomosisok, a test hely- és helyzetváltoztató mozgásai során a szövetek deformációja mind-mind befolyásolja, pillanatonként alakítja adott terület vascularis, micro-vascularis geometriáját a neuralis és humoralis szabályozó mechanizmusok mellett.

DUPress jegyzetek

5. Haemorheologiai paraméterek

5.1. Vér viszkozitás

A vér nem-newtoni folyadékként viselkedik, azaz viszkozitása függ a sebesség-gradienstől, jellegzetes Casson-típusú görbével írható le *(14. ábra)*.



14. ábra: A vér viszkozitás haematocrit (Htc)-függő profilja a sebesség-gradiens függvényében (Hardeman és mtsai, 2007 adatai alapján)

A vér viszkozitását meghatározó fő paraméterek a plazma viszkozitás (mint a szuszpenziós folyadék tulajdonsága), a haematocrit (mint a szuszpendált corpusculumok mennyisége), a vörösvérsejt deformabilitás és a vörösvérsejt aggregatio *(II. táblázat)*.

A vér nem-newtoni karakterisztikája haematocrit- és sebesség-gradiens függő. Alacsonyabb áramlási sebességnél a vér viszkozitása emelkedik (thixotrop hatás) a fellépő vörösvérsejt aggregatio viszkozitást növelő hatása révén. Magasabb se-

DUPre Nyzetek

besség-gradiens mellett a sejtek disaggregálódnak, az áramlás irányába elnyúlnak deformálhatóságuknak, elasztikus tulajdonságaiknak köszönhetően. Ez adja a vér viszkoelasztikus jellegét. A jellemzésére is szolgáló Maxwell-model magában foglalja a reverzibilis elasztikus deformációt, valamint a viszkózus energiával összefüggő elmozdulást.

A vér viszkozitás és a haematocrit (Htc) kapcsolata nem lineáris, inkább exponenciális jellegű függvényt mutat ($\log\eta$ = k+k'Htc, ahol k és k' a vérmintára jellemző konstansok). A vér nem-newtoni karakterisztikája a haematocrit emelkedésével erősödik *(III. táblázat)*

II. táblázat. A vér viszkozitását meghatározó fő paraméterek és tényezők.

Meghatározó tényező	Befolyásoló faktorok, jellegzetességek
plazma viszkozitás	hidráltsági állapot nagyméretű, elágazó térszerkezetű plazmafehérjék (főként fibrinogén) koncentrációja triglicerid szint
haematocrit	vörösvérsejtszám átlagos corpuscularis térfogat (MCV)
vörösvérsejt deformabilitás	abszolút sejttérfogat felszín-térfogat arány sejt morphologia intracelluláris viszkozitás sejtmembrán viszkozitás, elasztikus tulajdonságok
vörösvérsejt aggregatio	a plazma, mint szuszpenziós közeg makromolekula összetétele (főként fibrinogén koncentráció) vörösvérsejtek felszíni sajátságai (glycocalyx összetétel) a sejt alaki és mechanikus jellemzői sebesség-gradiens

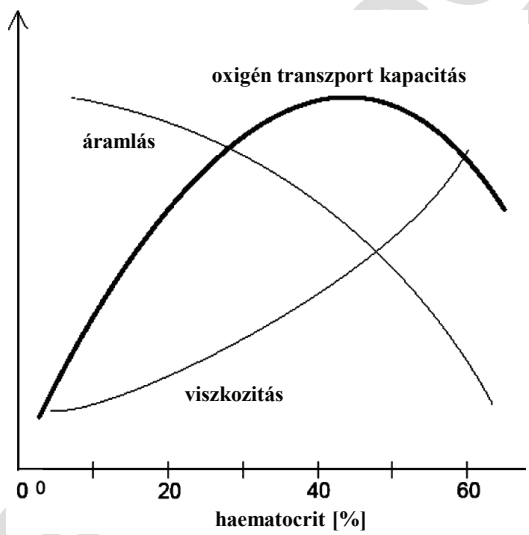
III. táblázat. Eltérő haematocritú vérminták viszkozitása különböző sebesség-grádiens mellett (Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics,* IOS Press, Amsterdam, 2007, p. 262. adatai alapján)

Sebesség -gradiens [s^{-1}]	viszkozitás [mPas] Htc 28%	viszkozitás [mPas] Htc 41%	viszkozitás [mPas] Htc 56%
1,3	7,15 ± 1,1	18,6 ± 3,9	39,7 ± 4,2
3,2	5,3 ± 0,6	12 ± 2,1	23,5 ± 2,2
8,1	4,29 ± 0,4	8,57 ± 1,3	15,6 ± 1,4
15	3,86 ± 0,3	7,22 ± 1	12,5 ± 1,1
51	3,36 ± 0,2	5,65 ± 0,7	9,07 ± 0,8

DUPress-jegyzetek

Sebesség -gradiens [s^{-1}]	viszkozitás [mPas] Htc 28%	viszkozitás [mPas] Htc 41%	viszkozitás [mPas] Htc 56%
150	3,12 ± 0,2	4,46 ± 0,5	6,86 ± 0,7
750	2,67 ± 0,2	3,63 ± 0,4	5,36 ± 0,7
1500	2,57 ± 0,2	3,44 ± 0,4	5,03 ± 0,7

A haematocrit/viszkozitás arány a haematocrit függvényében ábrázolva egy harang-alakú görbére emlékeztető összefüggést mutat, jellemző maximális értékkel, amely a vér oxigénszállító kapacitásának maximumát tükrözi („optimális" haematocrit), azaz a lehető legtöbb vörösvérsejt (a lehető legmagasabb haematocrit) a lehető legalacsonyabb viszkozitás (legjobb fluiditás) mellett adott sebesség-gradiens mellett mérve. Ez az oxigén transzport kapacitás szintén konkáv görbéjében nyilvánul meg *(15. ábra)*.



15. ábra: A haematocrit függvényében változó vér viszkozitás, áramlás (fluiditás), és oxigén transzport kapacitás összefüggésének sematikus ábrázolása

(Bogár L. és mtsai: Erythrocyte transport efficacy of human blood: a rheological point of view. Eur. J. Clin. Invest. 2005;35:687-690. és Reinhart W.H.: The optimum hematocrit. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016;64(4):575-585. alapján)

5.2. Plazma viszkozitás

A plazma viszkozitásának fő meghatározó tényezői a víztartalma és a benne lévő elongált, vagy elongált térszerkezetű makromolekulák (mint a fibrinogén) kon-

DUFK jegyzetek

centrációja, ezen kívül globulinfrakciók és a triglicerid szint is fontos tényezők. Meghatározó tényező még a hőmérséklet (a teljes vér viszkozitás tekintetében is).

A fibrinogén szint a cardiovascularis megbetegedések egyik független prediktora, hiszen az atherothromboticus folyamatokban többirányú szerepet tölt be: a thrombocyta aggregatio folyamatában betöltött esszenciális szerepe miatt, mennyiségi oldalról a fibrin depozitum és a coagulum méretének befolyásolása, valamint a plazma viszkozitásának növelése révén.

Fontos megjegyezni, hogy amíg a keringés különböző szakaszain az eltérő sebesség-gradiens profil és az alakos elemek, főként a vörösvérsejtek érpályán belüli interakciói és distributiója révén a vér látszólagos viszkozitása nem állandó, a plazma viszkozitása az érpályán belül konstansnak tekinthető. Így a 300 μm érátmérő alatti tartományban mutatkozó axiális áramlás révén kialakuló endothel-közeli, sejtszegény vagy éppen sejtmentes zóna (Poiseuille-zóna) és egyes capillaris-szakaszokon megfigyelhető úgynevezett plazma-skimming (amikor adott pillanatban, adott szakaszon a hajszálérben éppen nincs alakos elem, csak a plazma) esetén a plazma viszkozitása tartja fenn, illetve alakítja az endotheliumra ható nyírófeszültség profilt.

5.3. Vörösvérsejt deformabilitás

A deformabilitás a nyíróerő hatására kialakuló passzív alakváltozási képesség, amely függ a vörösvérsejtek abszolút térfogatától, felület/térfogat arányától, morphologiai jellemzőktől, a sejtmembrán viszkozitásától és az intracelluláris viszkozitástól (haemoglobin tartalom).

A vörösvérsejtek membránja a többi sejthez hasonló lipid kettősrétegből épül fel (cholesterol és phospholipidek közel 1:1 arányban). A cholesterol egyenletesen oszlik meg a két réteg között, míg a phosphatidylcholin és a sphingomyelin főként a külső lipidrétegben, míg a legtöbb phosphatidylethanolamin és minden phosphatidylserin a phosphoinositiddel együtt a belső monorétegben található. A membránban többféle phospholipid transzport protein van ágyazva (részben energiafüggő mechanizmusokkal), amely fenntartja ezt a phospholipid asszimmetriát. Ha a phosphatidylserin megjelenne a külső rétegben, a macrophagok felismernék azt és elpusztítanák a vörösvérsejtet. Emellett a phosphatidylserin-spectrin kötődés növeli a membrán mechanikai stabilitását is.

A vörösvérsejt membránban több mint 50 transzmembrán protein ismert: transzport proteinek (anion transzporter band-3, víz transzporter aquaporin-1,

DUPress e-jegyzetek

glükóz és L-dehydroascorbinsav transzporter glut1, urea transzporter Kidd antigen protein, gáz transzporter RhAG, Na^+/K^+-ATPáz, Ca^{2+}ATPáz, Na^+-K^+-$2Cl^-$, Na^+-Cl^-, Na^+-K^+, K^+-Cl^- kotranszporterek, Gárdos-csatorna), adhaesiós molekulák, receptorok, vércsoport antigének, A-D glycophorin komplexek, egyéb proteinek. A sejt felszínén lévő glycocalyx réteg (5-50 nm) sziálsav reziduumai nagyban hozzájárulnak ahhoz, hogy a vörösvérsejtek felszíni töltése nettó negatív (zéta potenciál: –15,7 mV; a sziálsavak eltávolítása után: -6,06 mV).

A membránproteinek két fő horgonyzó makromolekula komplexe ismert, amely a membrán skeletalis proteinekhez való kapcsolódást teszi lehetővé. Az egyik ankyrin alapú (LW, GPA, band-3, Ph, RhAG, CD47, glycophorin-A, protein 4.2 – ankyrin, kötődés a band-3 révén), a másik protein 4.1R alapú (Glut1, band-3, Rh, Duffy, Kell, XK, glycophorin-D, p55 – protein 4.1R, kötődés a glycophorin-D révén). A spectrin – actin – protein 4.1R junkcionális komplexben adducin és dematin is részt vesz. A membrán kettősréteg alatt húzódik az α és β-spectrinből felépülő, helikális szerkezetű filamentumokból álló hexagonális szerkezetű háló, amely skeleton felépítésében és stabilizálásában actin, protein 4.1R, protein 4.2, p55, adducin, dematin, tropomyosin és tropomodulin is részt vesznek. Ez a struktúra adja a vörösvérsejt membrán elaszticitását, mechanikus stabilitását. Nemcsak a proteinek sorrendiségétől, de foszforilációs állapotuktól és az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációtól is függ a stabilitás. A több mint 340 eddig ismert vörösvérsejt membrán protein közül 105 membrán integrált proteint azonosítottak a vörösvérsejteken. Az összetettséget és a megválaszolatlan kérdések sokaságát jelzi az is, hogy mintegy 80%-ukat még nem illesztették be strukturális-funkcionális modellekbe, szerepük még nem ismert.

Az emlősök és az ember érett vörösvérsejtei magvatlanok, ezért a sejten belüli viszkozitást, a cytoplasma viszkozitását döntően a haemoglobin oldat jellege határozza meg. Ha az átlagos sejt haemoglobin koncentráció (MCHC) 37 g/dl fölé emelkedik, az intracellularis viszkozitás meredeken emelkedik, kihatva az egész sejt deformálhatóságára, s ezáltal a microcirculatio területén való áthaladási nehezítettség miatt a szöveti perfusióra, oxigenizáltságra is. Az MCHC ezért egy viszonylag szűk tartományon belül (30-35 g/dl) szabályozott, aminek kulcsszereplői a sejtvolumen regulációjában résztvevő ATP-dependens Na^+, K^+ transzporterek.

A vörösvérsejtek viszkoelasztikus karakterisztikája összetett. A viszkozitási tulajdonság a membrán viszkozitásból és a cytoplasma viszkozitásból adódik. Az elasztikus tulajdonság felszín expanziós, nyírási és hajlítási elemekből tevődik össze.

Dupress Gyógyszerek

A felszín expanziós (vagy kompressziós) modulus (K) tükrözi a tárolt elasztikus energiát, ami a membrán izotrópikus felszíntágulás vagy -zsugorodás révén adódik:

$T_t = K\,(\Delta A/A_0)$, ahol T_t a feszülési erő, ΔA a felületváltozás, A_0 az eredeti felület.

A nyírási modulus (μ) azt az elasztikus energiát fejezi ki, amely azonos felület melletti membrán extenzióból adódik: $T_s = (\mu\,(\lambda^2 - \lambda^{-2}))\,/\,2$, ahol T_s a nyíróerő, λ az extenziós arány.

A hajlítási modulus (B) kifejezi azt az energiát, ami szükséges a membrán eredeti görbületéből egy másik görbületbe való hajlításához: $M = B\,(C_1 + C_2 - C_0)$, ahol M a hajlítás momentuma, C_1 és C_2 görbületek, C_0 a feszülés mentes állapot görbülete.

Az emberi vörösvérsejtek néhány rheologiai paraméterét a *IV. táblázat* foglalja össze.

IV. táblázat. A normál humán vörösvérsejtek rheologiai jellemzői (Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics,* IOS Press, Amsterdam, 2007. alapján)

Paraméter	Érték	Leírás
Átlagos corpuscularis térfogat	90 fl	
Membrán felület	~140 μm²	A bikonváv sejtalakból adódóan mintegy 40% felszíntöbblet van, mint amennyi a sejtvolument szferikus alakba tömörítené.
Membrán viszkozitás	0,7 μPa.s	Ez az érték nagyobb az intracelluláris viszkozitásnál, és az egyszerű lipid kettősréteg viszkozitásánál.
Citoplazma viszkozitás	6,4 mPa.s	Nagymértékben függ az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentrációtól.
Membrán nyírási (elongatiós) elasztikus modulus	6 μN/m	A nyíróerő-deformáció gradiensből adódik a sejtek lineáris feszítése során. Függ a membrán skeleton szerkezetétől. A vörösvérsejt fő elasztikus jellegzetességét adja.
Hajlítási, gyűrődési elasztikus modulus	$1{,}6 \times 10^{-19}$ Nm	A gyűrődéssel szembeni ellenállást fejezi ki.
Nyújtási deformációt követő alak visszanyerési idő	0,12 s	A membrán viszkozitás és a nyírási elasztikus modulus hányadosa.
Gyűrődési deformációt követő alak visszanyerési idő	0,31 s	A cytoplasma viszkozitás és a gyűrődési elasztikus modulus hányadosa.

DUPress e-jegyzetek

A vörösvérsejtek mozgása az áramlási viszonyoktól függően bonyolultan írható le. Gördülés, forgás, lengés, elongatio, ütközések következtében kialakuló elasztikus deformáció, és mindezek kombinációja, igen nehezen modellezhető komplexitásukban.

Alacsony viszkozitású közegben szuszpendálva a sejteket (mint például a plazma) a mozgásuk a szilárd testekéhez hasonlít. Ahogy az áramlási sebesség fokozódik, a legtöbb sejt egy pálya mentén áramlik (C=0), ahol a szimmetriai axisuk (merőleges a nyírási síkra) körül forognak. Ha a sejtek magasabb viszkozitású közegben vannak szuszpendálva, egy kritikus sebesség-gradiens felett a sejtek viselkedése a folyadékcseppekéhez hasonlít. A membrán közvetíti a nyomatékot a cytoplasma felé, miközben az áramlás orientációját tartja.

Alacsony és mérsékelt sebesség-gradiensnél a sejtek bikonkáv alakja még megtartott marad, magasabb értékeknél elongálódnak, alakjuk ellipsoid formát ölt. A pulzatilitás hatására, illetve oszcillációs áramlás során a sejtek inklinációs szöge nem azonos, kaotikussá válik. Kisebb kaliberű erekben, főként a capillárisok területén egyre nagyobb szerepet kap a súrlódás, nemcsak a sejtek között, hanem endothel-vérsejt vonatkozásában is. Az erythrocyták közepükön, legvékonyabb területükön benyomott fánkokra emlékeztető alakzatba sorjázva áramlanak.

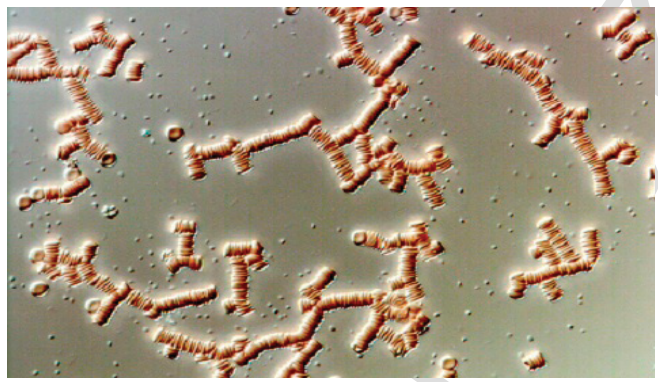
A keringés különböző szakaszain tehát eltérő mértékben játszik szerepet a deformabilitás. A romló deformabilitás, azaz a vörösvérsejtek rigidebbé válása, a keringés tömeges áramlás szakaszában (érátmérő >300 μm) a vérviszkozitás emelkedéséhez vezethet. A csökkent deformabilitású vörösvérsejtek a legjelentősebb problémát a mikrokeringés területén okozhatják (érátmérő <100 μm), ott is az úgynevezett egyenkénti áramlás szakaszában, a capillarisok területén. Itt 3-5 μm átmérőjű hajszálerek is előfordulnak – nem beszélve a lép vörös pulpáján keresztül a még kisebb átmérőjű réseken át történő fenestratióról. Ezeken a capillarisokon való áthaladáshoz elengedhetetlen a megfelelő deformabilitás. A létrejövő mikrokeringési, perfusiós zavarok tekintetében kritikus fontossággal bír a szív, az agy, a vese, a máj és a splanchnicus terület.

5.4. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio a sejtek reverzibilis összekapcsolódását jelenti, amely alacsony sebesség-gradiens mellett, illetve stasis során következik be *(16. ábra)*. A vörösvérsejtek kezdetben pénztekercs-szerűen egymás mellé rendeződnek (rouleaux-forma). Ez néhány másodperc alatt lezajlik: az egyszerűbb rouleaux-k 1-5 másodperc, a nagyobb, már összekapcsolódott sorozatok lassabban, további

DUPress e-Jegyzetek

10-60 másodperc alatt alakulnak ki két-, majd háromdimenziós alakzatba rendeződve, amíg az aggregatiót fenntartó hatások jelen vannak. Anticoagulált vérmintákban az aggregatumok nagyobb gömbökké állnak össze, majd a gravitáció hatására süllyedni kezdenek. Ez adja az erythrocyta szedimentációs ráta (ESR) vizsgálati jelentőségét, hiszen ha az aggregatio gyors és/vagy nagymértékű, a vérsüllyedés fokozottabb lesz.



16. ábra: Humán vörösvérsejtek aggregatiójának fáziskontraszt mikroszkópos képe (fotó: Prof. Oguz K. Baskurt jóvoltából)

A vörösvérsejt aggregatio folyamata a mai napig nem tisztázott teljesen. Az emlős fajok –beleértve az embert is– között mutatkozó zavarbaejtő erythrocyta aggregatiós diverzitás és *in vivo* jelentőségének, és számos kórfolyamatban mutatkozó nagymértékű fokozódásának még nyitott kérdései izgalmas területet jelentenek a kutatások számára.

Jelenleg két modellelmélet magyarázza az aggregatio létrejöttét. Az egyik modell szerint az egymáshoz közel kerülő vörösvérsejtek aggregatiója makromolekulák (nagy, elongált szerkezetű proteinek, mint a fibrinogén, vagy *in vitro* különböző polimerek) nem-kovalens kereszt-kapcsolódásai révén jön létre *(bridging modell)*. Ez a gyenge kötődés felbomlik, ahogy a disaggregáló erők kerülnek túlsúlyba: mint az elektrosztatikus repulzió (a sejtfelszín nettó negatív töltése miatt), a membrán feszülés, deformáció, továbbá a mechanikai nyíróerők révén (az aggregatumok teljesen diszperzálhatóak 20-40 s^{-1} sebesség-gradiens felett). Ez a modell azt feltételezi, hogy a protein vagy polimer koncentráció a sejtfelszínnél magas kell legyen. A sejtfelszíni struktúrákhoz nem specifikusan kötődő, abszorbálódó makromolekulák méretük és mennyiségük révén ellensúlyozhatják az elektrosztatikus repulziót, elősegítve az aggregatiót.

A másik magyarázat szerint éppen a sejtfelszín glycocalyx struktúrája miatt

Dubrovnik Press

nem képesek a makromolekulák egészen a membránig penetrálni, ezért a sejtfelszín közvetlen közelében valójában makromolekula-szegény réteg, depléciós zóna alakul ki *(depletion modell)*. Amint két vörösvérsejt egymás közelébe kerül, a plazma fázisban lévő makromolekula koncentráció és a depléciós zóna között kialakuló ozmotikus gradiens révén keletkezhet egy „összeszippantó" erő, ami az aggregatiót adja. Minél nagyobb a makromolekula koncentráció, annál erősebb lehet ez a grádiens.

Nincs egyértelmű álláspont a két elmélet abszolút létjogosultsága ellen vagy mellett, bár a legtöbb bizonyíték a depléciós modell alátámasztására ismert. Ugyanakkor nem kizárt a sejtek közötti direkt, akár specifikus keresztkötődés-jellegű kapcsolatok megléte sem. Atomerő mikroszkópián alapuló spektroszkópos vizsgálatokkal elemezték a thrombocyták felszínén is meglévő $\alpha_{IIb}\beta_3$ glycoprotein komplex struktrúrákat vörösvérsejteken, amelyek a fibrinogén direkt kötődését teszik lehetővé. Ezeknek az erythrocytákon is meglévő receptoroknak kisebb az affinitása, mint a vérlemezkéken lévőké, a receptor-fibrinogén kötődés kisebb energia igénybevételével felszakítható. Elképzelhető, hogy a két modell együttesen is igaz? A depléciós energiák a sejtek „összeszippantásához" fontosak, és ha már ebben a helyzetben, egymáshoz közel vannak, akkor már a valódi keresztkötődések is létrejöhetnek? Egyértelmű magyarázat erre a feltevésre sincs még.

A különböző plazmaproteinek, illetve *in vitro* az eltérő molekulaméretű polimerek különböző mértékben hatnak az aggregatiós folyamat létrejöttére és annak mértékére *(V. táblázat)*.

V. táblázat. Különböző plazmaproteinek hatása a vörösvérsejt aggregatióra. (Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ: *Red Blood Cell Aggregation*. CRC Press, Boca Raton, 2012 adatai alapján).

Plazma protein	M_m [kDa]	Plazma cc. [mg/ml]	Hatás az aggregatióra
Fibrinogén	340	1,5-3	↑
Immunoglobulin G	150	8	↑ vagy nincs
Immunoglobulin M	900	1,5	↑
C-reactive protein	25	<0,01	↑
Transferrin	80	2-3,6	nincs
Haptoglobin	38	0,5-2,5	↑ vagy nincs
Ceruloplasmin	151	0,2-0,4	nincs
α_1-acid glycoprotein	40	0,5–1	↑ vagy nincs
Albumin	66	20-50	↓, ↑, vagy nincs

DUPress egyzek

A vörösvérsejtek aggregabilitása az aggregatiós készségre utal, amelyet celluláris faktorok befolyásolnak és független a plazma tulajdonságaitól. Az aggregabilitás összehasonlító jelleggel különböző makromolekula oldatokban *in vitro* vizsgálható. Kimutatták, hogy a plazmafehérjék közül a fibrinogén, a C-reaktív protein és az immunoglobulin M a vörösvérsejt aggregatiót elősegítő, azt fokozó hatással bírnak, az immunoglobulin G, a haptoglobin inkább növelő, mintsem indifferens hatást mutatnak, míg a transferrin, a coeruloplasmin és az albumin nem befolyásolja az erythrocyta aggregatiót. *In vitro* a vörösvérsejtek aggregatióját a nagy molekulasúlyú makromolekulák és polimerek, mint a 60 vagy 73 kDa dextrán, vagy a 360 kDa polyvinyl-pyrrolidon (PVP), illetve a 36 kPa polyethylen-glycol (PEG) elősegítik, ugyanezek kisebb kDA-ú változatai hatástalanok az aggregatióra nézve (pl. PEG 10, Dex 10,5 vagy 18,1). Armstrong és munkatársai megállapították, hogy amennyiben a makromolekulák, polimerek hidrodinamikai rádiusza 4 nm-nél nagyobb, az aggregatiót fokozó hatással bírnak, ha kisebb ennél, az aggregatiót nem befolyásolják.

Ha kevés számú vörösvérsejt van jelen adott területen, ahol egyébként az aggregatio más feltételei adottak, kisebb eséllyel és kevesebben kerülnek egymás közelébe. Az aggregatio függ tehát a haematocrittól is: az aggregatiós index (AI, az aggregatio mértékével növekszik) 20-40% Htc között közel lineáris összefüggést, pozitív korrelációt mutat, 40-50% Htc között a görbe meredeksége kisebb, míg 50-60% között már nem változik jelentősen az AI egységnyi Htc növelése mellett.

Az aggregatióhoz a bikonkáv sejtalak megléte is elengedhetetlen. Ovalocyta, spherocyta, echinocyta, sphero-echinocyta sejtalakok nem vagy csak alig képesek aggregálódni. Az aggregatio során a legkisebb energiaveszteség elve szerint a maximális felületen való kapcsolódás irányába zajlik a folyamat. Ezért előnyös a bikonkáv alak, s ezért alakulhatnak ki viszonylag gyorsan a pénztekercs-formák, majd ezekből a vég- és oldalkapcsolódásokkal a kisebb felülettel bíró geometriai alakzatok.

Az aggregatio folyamata és mértéke függ tehát a sebesség-gradienstől, a plazma fibrinogén koncentrációjától, a haematocrittól, valamint olyan cellularis tulajdonságoktól, mint a vörösvérsejtek sejtfelszíni glycocalyx összetétele (a depléciós zóna jellege, lehetséges direkt kapcsolatokat lehetővé tevő glycoproteinek) és a sejt alaki jellemzői. Mindez igen összetett módon változhat különböző betegségekben, kórállapotokban, s nagy diverzitásnak ad hátteret különböző emlős állatfajok és az ember összehasonlításában is.

DUPress egyetemi jegyzetek

6. A mikrokeringés haemorheologiai vonatkozásai

A microcirculatio területe a keringés legnagyobb vascularis felületét jelenti, ahol az érátmérő jellemzően kisebb, mint 100 μm. Szűkebb definíció szerint a terminális vascularis hálózatként határozható meg, ahol az érátmérő 20 μm alatti. A microvasculaturát alkotó erek típusai és általános szekvenciája: arteriolák, pre-capillaris arteriolák, metarteriolák, arterio-venosus anastomosisok, capillarisok, post-capillaris venulák. Az arteriolák jelentős mértékben képesek az átmérőjüket változtatni (vasoconstrictio – vasodilatatio), emellé társul a pre-capillaris sphincterek működése is. Ennek következtében a teljes vascularis rezisztencia legnagyobb részét ezek képezik (a capillarisok és a post-capillaris venulák kevesebb, mint 25%-át teszik ki). A szervezetben mintegy 1000 m^2-nyi capillaris-fal felület biztosítja az anyagok cserélődését. Néhány szervben speciális elrendeződésűek a capillarisok (két capillaris terület soros elrendeződésben – portalis rendszerek): splanchnicus capillarisok (máj), glomeruláris capillarisok (vese), hypothalamo-hypophysealis terület capillarisai.

Az intakt mikrokeringés magas arányú perfundált capillarissal és alacsony áramlási heterogenitással jellemezhető. A regionális véráramlás regulációjában myogen, metabolikus és neurohumoralis mechanizmusok vesznek részt. A keringési rendszer morfológiai és áramlástani jellemzőit a *VI. táblázat* és a *17. ábra* mutatja be.

A microcirculatio hatalmas kiterjedésű területe áramlástani szempontól sem egységes. Az érátmérőn és érgeometrián túlmenőleg a viszkozitás sem tekinthető állandónak a vörösvérsejtek axiális migratiója (Fåhræus és Fåhræus-Lindqvist effektus), a fázisszeparáció, a szöveti haematocrit (microvascularis haematocrit) heterogenitása, valamint az egyenkénti áramlás zónájának sajátosságai miatt.

Az izolált szerveknél, perfusiós *ex vivo* modellekben ezért az érfal átmérőjének állandóságát biztosító megoldások (maximális dilatatio vagy maximális constrictio) csak akkor tudnának átfogó képet adni, ha azt feltételeznénk, hogy a keringés minden szakaszán a viszkozitás állandó. Ez pedig nyilvánvalóan nem igaz. Ezért is van szükség a micro-rheologiai paraméterek szerepének tüzetesebb vizsgálatára, hiszen az axiális áramlás mértékének és így az érfalra kifejtett nyírófeszültség kialakításában -a plazma viszkozitás mellett- fontos szerepe van a vörösvérsejt aggregatiónak, valamint főként a capillarisok területén a deformabilitásnak.

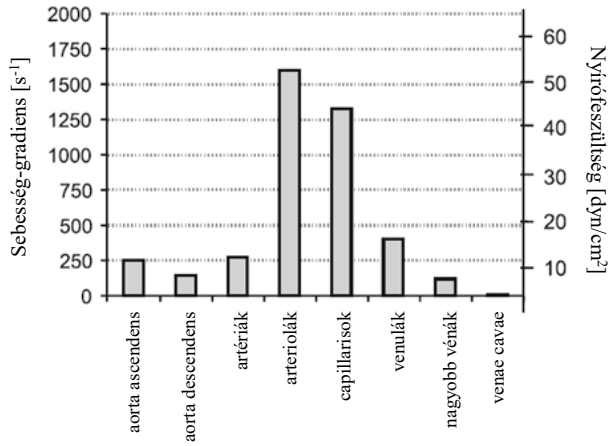
Dunapress egészségtek

VI. táblázat. A keringés különböző szakaszaira jellemző paraméterek
(McDonald 1974; Lipowsky 1995; Chandran 2012, Baskurt 2012 munkái alapján)

Ér	Átlagos átmérő [mm]*	Erek száma*	Átlagos hossz [mm]*	Totál keresztmetszet [cm^2]*	Totál volumen [mL]*	A teljes vértérfogat százaléka [%]*	Átlagos átmérő [mm] #	Átlagos áramlási sebesség [cm/s] #	Sebesség-gradiens az érfalnál [s^{-1}] #
Aorta	19 – 45	1		2 – 16	60	11	16 – 32	6	150 – 300
Arteriák	4	40	150	5	75		0,1 – 6	15 – 50	200 – 2 000
	1.3	500	45	6,6	30				
	0,45	6 000	13.5	9,5	13				
	0,15	110 000	4	19,4	8				
Arteriolák	0,05	$2{,}8 \times 10^6$	1,2	55	7	5	0,04	0,5	1 000
Kapillárisok	0,008	2.7×10^9	0,65	1 357	88		0,005 – 0,01	0,05 – 0,1	400 – 1 600
Venulák	0,1	1×10^7	1,6	785,4	126		0,02 – 0,1	0,2 – 0,5	800 – 400
Vénák	0,28	660 000	4,.8	406,4	196	67	0,2 – 10	15 – 20	120 – 320
	0,7	40 000	13,5	154	208				
	1,8	2 100	45	53,4	240				
	4,5	110	150	17,5	263				
Venae cavae	5 – 14	2		0,2 – 1,5	92		20	10,15	40 – 60

* kutyában (Chandran 2012), # becsült adat emberben (McDonald 1974; Lipowsky 1995; Baskurt 2012)

DUPress egyetemi jegyzetek



17. ábra: A sebesség-gradiens és a nyírófeszültség eloszlása a keringés különböző szakaszain

1 dyn/cm^2 = 0,1 Pa (Papaioannou T, Stefanadis C: Vascular wall shear stress: Basic principles and methods. Hellenic J Cardiol 2005;46:9–15. alapján)

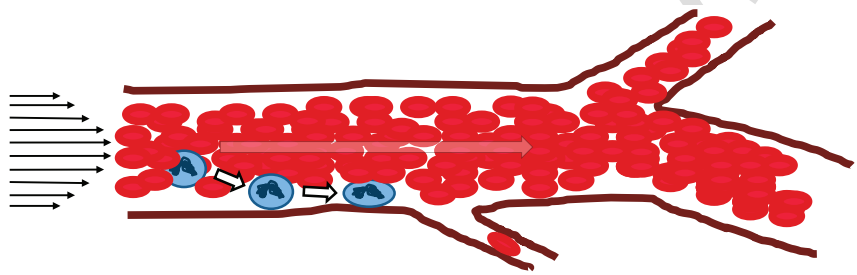
Ahogy a fizikai alapokkal foglalkozó fejezetben említésre került, számos további tényezőt is figyelembe kell venni a keringési viszonyok jobb megértéséhez a mikrokeringés területén: rendkívül változatos és hálózatos ér-geometria (figyelembe véve a szinte soha nem szabályos körként jellemezhető ér-átmetszetet is), érfal rugalmassága, hemodinamikai sajátságok, áramlási profil és annak leírását segítő paraméterek (pl. Reynolds-szám, Dean-szám, Womersley-szám).

A haemorheologiai faktorok és a microcirculatiós sajátságok összefüggéseinek további tanulmányozásában nagy jelentőséggel bírhatnak azok az *in vivo* modellek, amelyek a lehető legtöbb fent részletezett paraméter párhuzamos vizsgálatait tudják nyújtani.

Fåhræus 1958-ban megfigyelte, hogy fokozottabb aggregatio mellett az üvegkapillárisban (d = 95 µm, áramlási sebesség = 3,3 mm/s) mutatkozó axiális áramlás, azaz a vörösvérsejtek áramlási tengely mentén való tömörülése kifejezettebb, a sejtmentes széli zóna szélesebb. A lamináris áramlás kialakulásával adódó parabolikus áramlási sebesség-profil és az ezt némileg tompító keringő particulumok (vérsejtek) jelenléte együttesen alakítja ki a jellemzően 200-300 µm érátmérő alatti tartományban mutatkozó jelenséget, a vörösvérsejtek axiális migrációját. Az ér átmetszetén belül eszerint nem egyenletes a vörösvérsejtek eloszlása és sebessége, ami a haematocrit dinamikus redukciójához, a Fåhræus-effektushoz vezet. Ennek következménye, hogy hozzávetőlegesen a 10–100 µm közötti értartományban az érátmérő csökkenésével a látszólagos viszkozitás is csökken (Fåhræus-Lindqvist-effektus).

Dunaprint Grieg Zetek

Az érfal mentén egy vörösvérsejtekben szegény, vagy sejtmentes széli plazma zóna alakul ki (Poiseuille-zóna), amely az érfal és az áramló folyadék kapcsolata tekintetében csökkenti a súrlódási, ezáltal a hidrodinamikai ellenállást. Amennyiben az áramlási sebesség elég nagy, minden alakos elem az áramlási tengely felé tömörül. Amikor a sebesség-gradiens és nyomásviszonyok lehetővé teszik a vörösvérsejt aggregatio létrejöttét (jellemzően a postcapillaris venulák és venulák területén), az axis mentén áramló particulumok (aggregatumok) mérete ezáltal megnövekszik, a Poiseuille-zóna szélesedik, elősegítve a fehérvérsejtek margináció*ját* is *(18. ábra)*.



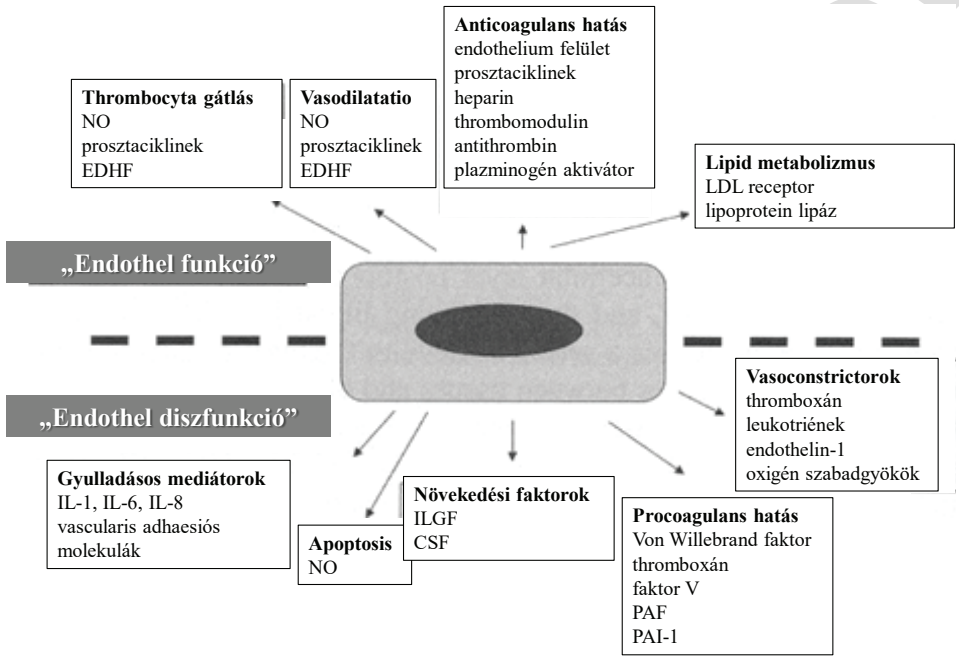
18. ábra: A vörösvérsejtek axiális migrációja és ennek hatásai a disztribúcióra és a fehérvérsejtek margináció*já*ra

A mikrokeringésben az egyenkénti áramlás szakaszához (capillarisok) közelítve a rendkívül változatos elágazódások, összeköttetések, kanyarulatok, endothelfelszín sajátságok révén is az egy-egy oldalágba jutó vörösvérsejtek száma pillanatról pillanatra változik. Egyszer igen nagyszámú vérsejt lehet jelen adott szakaszon, magas lokális haematocritot adva, s akár szerelvényszerűen tömörödve a méretéből adódóan egy-egy lassabban, nehezebben haladó fehérvérsejt mögött, máskor alig vagy egyáltalán nincs egy rövid időre vörösvérsejt az adott capillaris szakaszon. Mindez a szöveti, microvascularis haematocrit igen széles tartományban mozgó és dinamikusan változó heterogenitását adja.

Itt kell megjegyezni, hogy az endotheliumnak számos funkciója van. Ezek egy része humorális úton, más része nyírófeszültség által modulált. Ez az endothel diszfunkcióra is igaz. Normál körülmények között a különböző irányú funkciók egyensúlyban vannak *(19. ábra)*. Számos mechanoszenzitív transzmembrán protein, ion-csatorna, receptor van az endothelsejtek felületén a glycocalyx rétegben, amely a nyírófeszültség változás, valamint az ezt előidéző áramlási profil eltérésekre (laminaris vs. turbulens) érzékenyen reagál közvetlen ion-csatorna működés befolyásolása, különböző jelátviteli mechanizmusok (pl. G-protein, tirozin-kináz útvonalak) révén, amelyek közvetlen sejtfunkciókat, transzkrip-

DUPress e-mintázat

ciós mechanizmusokat (pl. JNK, ERK) modulálnak tovább. Tehát a bármely ok miatt megváltozott rheologiájú vér és áramlási profil közvetlen hatással van az endothel funkcióra.



19. ábra: Az endothel különböző irányú funkciói
(Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, 2007 alapján)

DUPress

DUPress e-jegyzetek

7. A nyirokáramlás rheologiája

A testünkben lévő folyadék mintegy 55% intracellularis, 45%-a az extracelluláris térben van. Ennek 25%-a ereken belüli (intravasalis), 75%-a extravasalis (interstitiumban, fibrosus kötőszövetben, csontállományban, vagy transzcelluláris folyadékként). Az egyes kompartmentek közötti anyagáramlás módjai a diffúzió, a hidrodinamikai folyadékcsere (tömegáramlás), a vezikuláris transzport (pinocytosis) és az aktív transzport.

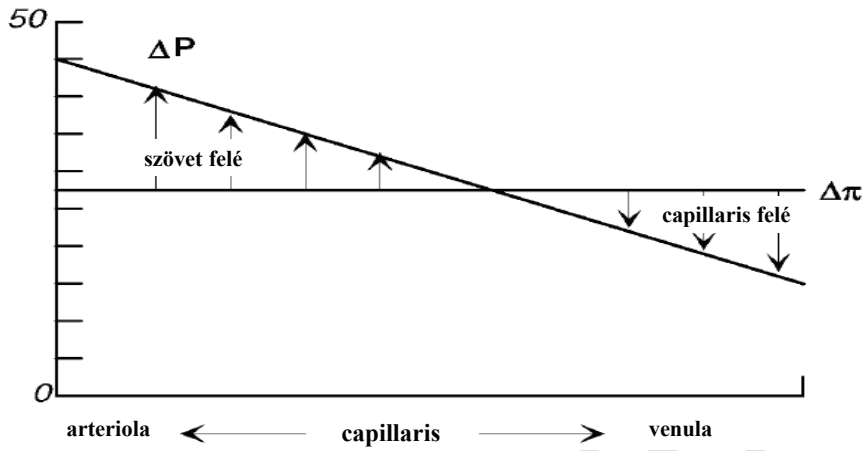
A mikorkeringés területén az artériás oldalon filtrálódó folyadékmennyiség hozzávetőlegesen 90%-a kerül reszorpcióra, a mintegy 10% os különbözet a nyirokkeringés útján kerül elvezetésre és kerül majd vissza a vérkeringésbe. A nyirokképződés mechanizmusát ma is leginkább a Starling erőkkel magyarázzák.

A capillarisok fala normál esetben fehérjékre nem átjárható (de ez nem 100%-os átjárhatatlanság), az artériás végen filtráció, a vénás végen reszorpció következik be. A hajtóerő az úgynevezett effektív filtrációs nyomás (P_{eff}):

$$P_{eff} = (P_c - P_i) - \sigma(\pi_c - \pi_i)$$

ahol P_c a capillárisban lévő hidrosztatikus nyomás, P_i az interstitium hidrosztatikus nyomása (e kettő különbsége az effektív hidrosztatikai nyomás), π_c a capillarisban lévő kolloidozmotikus (onkotikus) nyomás, π_i az interstitium onkotikus nyomása (különbségük az effektív onkotikus nyomás). A σ a fehérjék rejekciós hányadosa, ami folytonos kapilláris esetén 0,75-0,95. Ha az effektív filtrációs nyomás pozitív, úgy filtráció történik, ha negatív, (re)abszorpció lesz *(20. ábra).*

DUPress egyetemi jegyzetek



20. ábra: A nyirokképződés mechanizmusa (Starling-erők)

A folyamatot az alábbi példa szemlélteti:

$P_{eff,\ arteriolás}$ = (35 Hgmm – 1 Hgmm) – (25 Hgmm – 5 Hgmm) =
= 14 Hgmm eredmény: *filtráció*
$P_{eff,\ venulás}$ = (12 Hgmm – 1 Hgmm) – (25 Hgmm – 5 Hgmm) =
= –9 Hgmm eredmény: *reabszorpció*

A keletkező nyirok szöveti réseken a nyirokkapillárokba kerül, amelyek nyirokerekbe szedődnek össze, és különböző lokalizációjú nyirokcsomókba vezetnek. Az onnét továbbvezető nyirokerek nagyobb nyiroktörzsekbe fejlődnek, majd egy közös úton az angulus venosusba torkollva vezetik a lymphát vissza a vérkeringésbe.

A nyirokáramlást fenntartó erők: nyomásgrádiens (kicsi, 2-3 Hgmm), nagyobb nyirokerek falában simaizomelemek, izompumpa, billentyűk szerepe.

Mikor jön létre nyirokpangás?

1. Fokozott intracapillaris hidrosztatikai nyomás esetén (gravitáció, vénás obstrukció, kongesztív szívelégtelenség)
2. Csökkent plazma onkotikus nyomás miatt (éhezés, proteinvesztő vesebetegség)
3. Megnövekedett szöveti onkotikus nyomás következtében (megnövekedett kapilláris permeabilitás a plazma proteinek számára: gyulladás, trauma)
4. Nyirokerek elzáródása miatt (szöveti trauma, gyulladás, hegesedés, tumor áttét, filariasis)

DUPress ejegy.hu

8. Haemorheologiai és mikrokeringési mérőmódszerek

8.1. A vér- és plazma viszkozitás meghatározásának módszerei

A vér viszkozitásának meghatározására olyan mérőmódszerek alkalmasak, amelyek több sebesség-gradiens mellett képesek meghatározni a viszkozitást. A nyírófeszültség vagy sebesség-gradiens profil generálása történhet a gravitációs erő hatására (pl. a kapilláris viszkoziméterekben), vagy beépített motorika által létrehozott, meghatározott szögsebességgel történő forgó mozgás révén (rotációs viszkoziméterek). A legtöbb viszkoziméter az 1960-as évekig kapilláris típusú volt, később jelentek meg a rotációs viszkoziméterek. Előbbiekben a folyadékoszlop helyzet-idő adataiból lehet az áramlási sebesség-profilt meghatározni, és a cső geometriájából adódóan kalkulálható a nyírófeszültség. A rotációs viszkoziméterek geometriája többféle lehet: kúp-sík (cone-plate), kúp a kúpban (cone-in-cone), vagy koaxiális hengeres (coaxial cylinder, vagy Couette-rendszer) sebesség-gradiens-kontrollált vagy nyírófeszültség-kontrollált formában. A két elem közé tölthető be a mérendő folyadék. Az egyik elem rotor által forgatható beállított szögsebességgel. A nem rotált elemre a folyadék viszkozitásától függő mértékben áttevődő forgatónyomatékból és a következményes elmozdulásból – amely különböző mechanikai és lézer diffrakciós elvvel kombinált módszerekkel mérhető– meghatározhatóvá válik a viszkozitás adott sebesség-gradiens mellett. Ismertek oszcillációs áramlás viszkoziméterek, amelyek a viszkózus komponens (a sebesség-gradiens amplitúdójából kalkulálható) és az elasztikus komponens (a nyírófeszültség sebesség-gradienshez viszonyított fáziskésésből számítva) vizsgálatára alkalmasak.

A plazma viszkozitás mérésére -tekintettel a newtoni karakterisztikára- olyan viszkoziméterek is alkalmasak, amelyek metódusa nem függ a sebesség-gradienstől. Adott geometriájú rendszeren való folyadékáramlási sebességből, helyzet-idő adatokból (U-alakú cső vagy kapilláris rendszerű viszkoziméterek: pl. Ostwald, Coulter-Harkness, Rheomed, Luckham viszkoziméterek), vagy a golyóejtős viszkoziméterekben (pl. Haake-típus) a közegellenállás hatásából a Navier-Stokes egyenlet felhasználásával lehet kalkulálni a folyadék dinamikus viszkozitását: $F=6\pi r\eta v$, ahol F a súrlódási erő, r a gömb alakú test rádiusza, η a folyadék viszko-

DUPress Grabyzetek

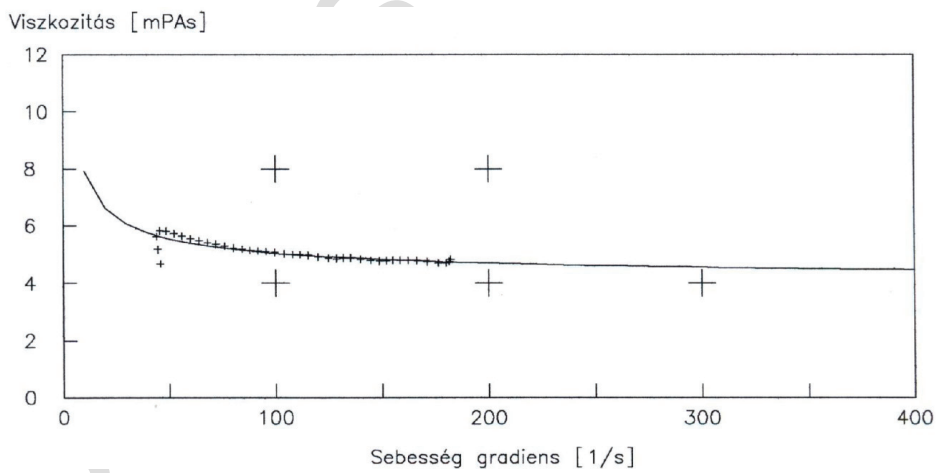
zitása, v a gömb alakú test sebessége. Egyszerűbb módszerrel: $\eta=k(\rho_1-\rho_2)t$, ahol k konstans, ρ_1 a golyó sűrűsége, ρ_2 a folyadék sűrűsége, t a golyó esésének ideje.

Kapilláris viszkozimetria

Hazánkban a vér és a plazma viszkozását leggyakrabban Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel (Hemorex Kft., Budapest) mérik *(21. ábra)*.

21. ábra: A Hevimet-40 kapilláris viszkoziméter fotója

A készülék magyar technikai fejlesztés (Dr. Mátrai Árpád, Dr. Fendler Kornél) és továbbfejlesztés (Dr. Kollár Lajos, Kenedi István) eredménye. A rendszer két, temperált olajfürdőbe (37 °C) merülő kapilláris csőből áll (hossz: 500 mm,



22. ábra: A Hevimet-40 viszkoziméter által adott, teljes vérre jellemző (Casson-típusú) reprezentatív görbe, a viszkozitás adatok sebesség-gradiens függvényében történő ábrázolásával, a szoftver által illesztett görbével

DE-OGYEI Egyetemi jegyzetek

belső átmérő: 0,6 mm), amelyek mentén 40-40 pár fotodetektor található. A nyomás-gradiens a mintafolyadék saját hidrosztatikus nyomásából ered. A folyadék (~0,6-0,7 ml anticoagulált vérminta vagy plazma) kapillárisba töltését követően a készülék opto-elektronikusan rögzíti a folyadékoszlop tetején képződő meniscus pontos helyzet-idő diagramját a felülről érkező és róla visszaverődő fény helyzetének detektálásával. Az adatokból a csatlakozó komputer kiszámítja a kapilláris belső fala és a minta között keletkező sebesség-gradiens értékeket, amelyekhez hozzárendeli az aktuális hidrosztatikai nyomásból eredő nyírófeszültséget. E két származtatott paraméterből kiszámítható a dinamikus viszkozitás érték newtoni és nem-newtoni (Casson-típusú folyási görbe) folyadékokra nézve, utóbbit a sebesség-gradiens függvényében megadva (10-240 s^{-1}) *(22. ábra).*

A teljes vér viszkozitásának jellemzésére a hazai és nemzetközi konvencióknak megfelelően leggyakrabban a 90 s^{-1} sebesség-gradiensnél mért értékeket [mPas] használunk.

A vérviszkozitás haematocrit-függő, ezért ahol valamennyi szükséges paraméter rendelkezésre állt, a vérviszkozitást Mátrai és munkatársai által ajánlott matematikai formula segítségével lehet 40%-os haematocritra korrigálni:

$$\frac{TVV_{40\%}}{PV} = \left(\frac{TVV_{Htc}}{PV}\right)^{\frac{40\%}{Htc}}$$

ahol $TVV_{40\%}$ = a 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás; TVV_{Htc} = az adott haematocritú minta teljes vér viszkozitása; PV = a minta plazma viszkozitása; Htc = a minta haematocritja, amely képletből a $TVV_{40\%}$ kifejezhető.

8.2. A vörösvérsejt deformabilitás mérőmódszerei

A vörösvérsejt deformabilitás meghatározására számos módszer, többféle megközelítés ismert. A legismertebbek és a mai napig is használatosak a filtrációs módszeren alapuló technikák, a mikropipettás aspirációs technika, a mikrocsatornás módszerek és az ektacytometria.

Az 1960-as években kezdték használni a filtrációs technikát: adott pórusátmérőjű filteren (~200 000 pórus) való vérsejt-szuszpenzió áthaladás paramétereit mérve (filtrációs nyomás, áramlási sebesség) lehet következtetni a sejtek deformabilitására, miközben a pórusok eltömődése miatt a szűrőmembrán áteresztőképessége folyamatosan csökken. A kezdetben használt papíranyagú filtereket felváltották a polimerekből készült, 3, 5 és 8 μm átmérőjű és 10 μm

DUPress Jegyzetek

hosszúságú, hengeres csatornákat tartalmazó szűrőmembránok. A klasszikusnak tekinthető Reid-Dormándy-féle filtrációs eljárás konstans (10%) haematocritú vörösvérsejt-szuszpenzió szűrését jelentette 5 µm pórusátmérőjű filteren. Az elv továbbfejlesztésével Dormándy János Mátrai Árpáddal és munkatársaival elkészítette a St. George's Filtrometert. E technikán alapul a hazai fejlesztésű Carat FT-1 és az M200 típusú filtrométer (Carat Diagnosztika Kft., Budapest). Az oligopore (20-30 pórus) illetve az egyetlen pórusú technikák (Single Erythrocyte Rigidometer, SER) szofisztikáltabb módszerek, itt főleg a filter két oldala közötti konduktivitás megváltozásának ideje függ össze a póruson éppen áthaladó vörösvérsejtek jelenlétével, amely folyamatot a kapcsolt számítógép a pórus tranzitidő hisztogram szerint analizálja (Cell Transit Analyzer, CTA).

A mikropipettás módszerrel egyetlen sejt vizsgálható amely egészben vagy részben kerül aspirációra egy 1-5 µm átmérőjű üvegkapillárisba. A negatív nyomás mérése és az aspirált membránszakasz hossza adja a nyírási elasztikus modulust, míg a teljes sejt aspirációja a deformabilitást. Komoly technikai felkészültség szükséges hozzá.

A mikrocsatornás módszer alapja, hogy egy vagy több, egymással párhuzamos, vagy az újabb módszereknél akár egy capillaris hálózatot utánzó geometriájú rendszerben áramoltatják át a sejt-szuszpenziót, miközben a vörösvérsejtek mozgása, a csatornácskákon való áthaladási idő, a sejtek helyzete vizuálisan elemezhető a videofelvétel off-line analízisével.

Az ektacytometria a magas viszkozitású makromolekula oldatban szuszpendált és nyíróerő hatására elongálódó vörösvérsejtekről visszaverődő lézernyaláb diffrakciós analízisén alapul, megadva a sejtpopuláció elnyújthatósági, elongatiós indexét a nyírófeszültség függvényében. További módszerek a rheoscope technika (az ektacytometria és a mikroszkópia kombinációja), az atomerő mikroszkópia, az optical tweezer, a magnetic twisting cytometria.

Az individuális vörösvérsejtek deformabilitásának vizsgálatát lehetővé tevő módszerek igen értékes információkat nyújtanak a sejtek mechanikai tulajdonságairól. Azonban egy-egy sejt vizsgálata nem tükrözi a különböző korú és állapotú vörösvérsejt populációk jellegzetességeit, mint ahogy a nagyszámú sejtek tömeges filtrációját vagy elongatióját vizsgáló módszerek is keveset mondhatnak az egyes sejtek deformabilitásáról. A legtöbb módszer teljes mértékben afiziológiás körülmények között zajlik: mosott vörösvérsejtek különböző pufferekben való szuszpenziója, a teljes vér magas viszkozitású makromolekula közegben való elegyítése, egy-egy sejt mikropipettás aspirációja, vagy a sejtszuszpenzió egy előre meghatározott geometriájú rigid mikrocsatorna rendszeren való átáramoltatása nem tükrözheti pontosan a keringési viszonyokat. Ma még nem ismert

Dunapress Egészségtár

olyan módszer, amely *in vivo* lenne képes vizsgálni a vörösvérsejtek mechanikai, deformabilitási tulajdonságait.

8.2.1. Filtrometria

A Carat FT-1 típusú filtométerrel (Carat Diagnosztika Kft., Budapest) a St. George's Filtrometer hazai továbbfejlesztésű változata. A berendezés vízszintes áramlási terét egy függőlegesen elhelyezett Nuclepore® polycarbonat anyagú szűrőmembrán két részre osztja: a szűrő előtti és utáni térre. A töltőcsövön keresztül folyadékot (először kalibrációs oldat, majd sejtszuszpenzió) injektálunk a szűrőkamrába és a mérőcsőbe.

A szűrési folyamat és a mérés a csap megnyitásával indítható, aminek hatására a Δp hidrosztatikai nyomáskülönbség (általában 4 vízcm) hatására a folyadékáramlás megindul a mérőcsőből a szűrőmembránon keresztül a tartály felé. A folyadékoszlop meniscusának fotodetektorok előtt való elhaladása eredményezi a helyzet-idő adatokat. A mérési folyamat első fázisaként kalibrációt végzünk, leggyakrabban pufferelt sóoldattal (normál foszfát puffer, phosphate buffered saline, PBS), majd a mérendő sejtszuszpenziót töltjük a készülékbe és megindítjuk a mérést.

A sejtszuszpenzió közege szintén PBS, így a kalibrációs méréshez viszonyított (relatív) filtrációs sebesség meghatározható. A sejtszuszpenzió átszűrődése alatt a relatív filtrációs sebesség a szűrő pórusainak fokozatos, progresszív eltömődése miatt lineárisan csökken. Ennek következtében az egymást követő 20 µl térfogatú folyadékszegmensek relatív filtrációs sebességéből lineáris extrapolációval meghatározható a kezdeti relatív filtrációs sebesség (initial relative filtration rate, IRFR). A vörösvérsejt szuszpenzió haematocritjának ismeretében a relatív sejttranzitidő (relative cell transit time, RCTT) kifejezhető:

$$RCTT = \frac{\frac{1}{IRFR} - 1}{Hto} + 1$$

A standardok szerint a méréseket a vérvételtől számított 2 órán belül, 22±1 °C-os környezetben, 5% haematocritú vörösvérsejt-PBS szuszpenzión (ozmolalitás: 295 ± 5 mOsm/kg; pH: 7,4), 4 vízcm filtrációs nyomás mellett, 5 µm pórusátmérőjű Nuclepore® filter alkalmazásával kell végezni.

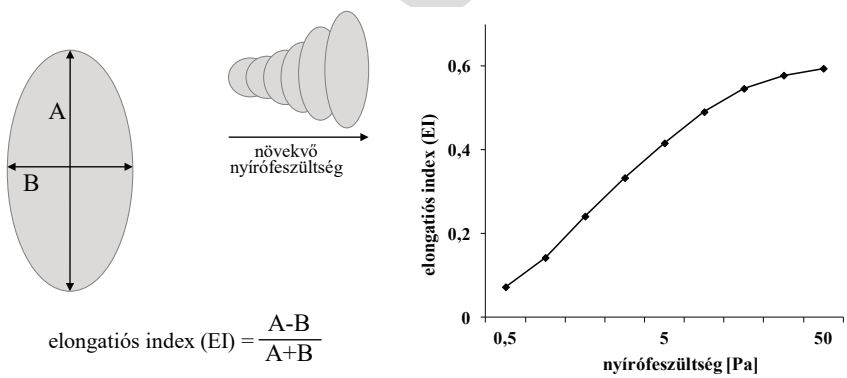
A mérések kivitelezéséhez a vörösvérsejt-PBS szuszpenzió készítésénél (többszöri centrifugálás, PBS-ben történő mosás) mechanikusan és akár ozmotikusan is sérülhetnek a sejtek. Standardizálási nehézséget jelent a sejtméret-pórusméret arány kérdése, amely a műszer érzékenységét is jelentősen meghatározza. Fon-

DUPress e-jegyzetek

tos befolyásoló tényező még a filtereken lévő pórusok száma, mérete és esetleges éles széle, amely a sejtek mechanikai sérülését okozhatja, a szuszpenzió ozmolaritása, pH-ja, a haematocrit mellett. A mintaelőkészítés során nem lehet teljesen leukocyta- és thrombocyta-mentes szuszpenziót készíteni, így ezek befolyásoló hatásával (filtrációs sebesség csökkenés, pórus-eltömődés) számolni kell. A metodika különböző laboratóriumi állatfajokra történő adaptációja során fontos kérdés továbbá a mérésekhez szükséges mintamennyiség. A filtrométerbe való betöltéshez, két- vagy háromszori méréshez szükséges mennyiségű 5%-os vörösvérsejt-PBS szuszpenzió elkészítéséhez ugyanis mintegy 2-2,5 ml vér vételére van szükség.

8.2.2. Hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria

A vörösvérsejt deformabilitás ektacytometriás (lézer diffrakciós ektacytometria) elven való mérése azon alapszik, hogy a vörösvérsejtek nyíróerő hatására való elongálódása során az eltérő denzitás miatt a vörösvérsejt-szuszpendáló közeg határáról visszaverődő lézernyalábok az elnyúlás mértékében szóródnak. A rögzített diffraktogrammból kifejezhető az elnyúlási, azaz elongatiós index (EI), amelyet a nyírófeszültség (shear stress, SS [Pa]) függvényében ábrázolnak *(23. ábra).* Adott nyírófeszültségnél a magasabb EI értékek jobb elnyújthatóságot, jobb deformabilitást tükröznek.



23. ábra: Az ektacytometriás mérések során nyert diffraktogramm elemzésével nyert elongatiós index meghatározása és ábrázolása a nyírófeszültség függvényében

A módszer nagy előnye, hogy a vörösvérsejt deformabilitás meghatározásához igen kis mennyiségű vér szükséges (5-6 µl). A mérésekhez az antikoagulált vérmintát (5-6 µl natív vér, K_3-EDTA 1,5–1,8 mg/ml) magas viszkozitású (általában 20 mPas feletti, de preferáltan 30 mPas körüli) makromolekula vagy

DUF. előzetes

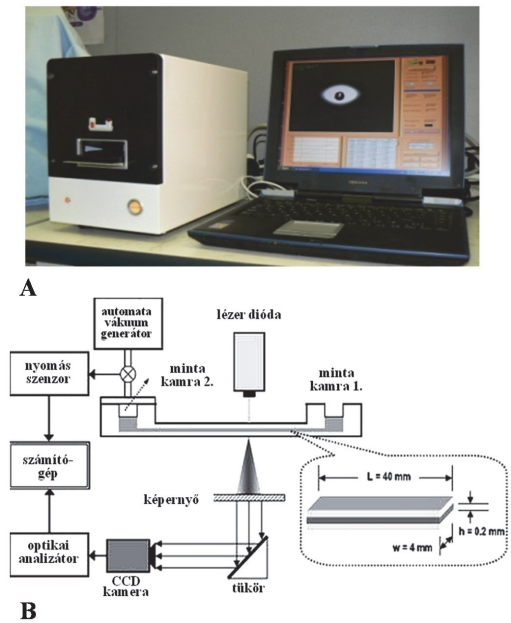
polimer oldatban (0,6–1 ml, 70 kDa dextrán vagy 360 kDa polyvinyl-pyrrolidon, PVP; pH=7,3-7,4) szuszpendáljuk közvetlenül a mérések előtt. Az oldat magas viszkozitása szükséges a sejtek erőhatás irányába való orientációjához és a nyíróerő membránra való áttevődéséhez, az elongatióhoz. Ellenkező esetben, az ún. „tank tread" mozgás hiányában a sejtek csak pördülnének a mintában, torzult diffraktogrammot, negatív vagy zero értékű EI-t eredményezve. Ismert ugyanakkor az is, hogy a vörösvérsejtek viszkózus dextrán vagy PVP oldatban alakváltozáson is áteshetnek, illetve PVP-ben kettesével összekapcsolódhatnak („teniszlabda" forma).

Az ektacytométerek különböző felépítésűek lehetnek mérőkamrájuk geometriája és mérési technikájuk szerint. A nyírófeszültség generálására többféle módszert alkalmazhatnak, mint a rotációs elven működő párhuzamos korong és a Couette-rendszerek, vagy a vakuum-generált áramlást alkalmazó slit-flow rendszer. Couette rendszerű ektacytometer a laser assisted rotational cell analyzer (LORCA), míg slit-flow elven a Rheoscan D-200 ektacytometer működik.

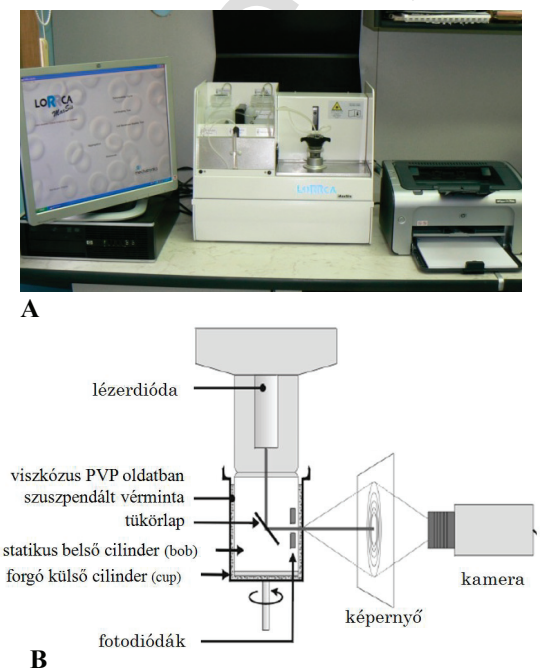
A *Rheoscan-D200 slit-flow ektacytometerrel* (Sewon Meditech Inc., Korea) történő mérésekhez egyszerhasználatos, áttetsző műanyagból készült mérőkamrára van szükség, amelyben két hengeres tartályt 200-220 μm magasságú, 40 mm hosszúságú rés köt össze. Az egyik tartály gumidugóval fedett. A mintát (6 μl vér 600 μl szuszpenziós oldatban) a fedetlen tartályba kell tölteni. A készülék a gumidugót tűvel átszúrja, majd a tűn keresztül a légköri nyomáshoz viszonyítva vakuumot generál néhány másodpercre, aminek hatására a viszkózus minta egy része áthalad a résen kezdetben gyors, majd a vákuum megszűnésével lassuló áramlási sebességgel. Az áramlási csatornára vetül a lézer, a túloldalon CCD kamera rögzíti a diffraktogrammot, amelyet a fent ismertetett módon analizál *(24. ábra)*. A nyírófeszültség kiszámítása (0,5-20 Pa tartományban) a nyomásértékekből és a rés geometriájából adódik (ezt minden mérés kezdetén be kell táplálni a programba). A minta viszkozitás adataira itt nincs szükség a kalkulációhoz. A készülék nem temperált.

A *LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometer* (Mechatronics BV, Hollandia) működési elvét a *25. ábra* mutatja. A mérések során a mintát (5 μl vér 1 ml szuszpenziós oldatban) a statikus belső (bob) és a forgó külső (cup) cilinder közötti térbe (szélesség: 0,3 mm) töltjük. A cup meghatározott szögsebességgel forgómozgást végez, eközben a mintára lézernyaláb vetül. A nyírófeszültség (beállítható 0,3–75 Pa között, leggyakrabban: 0,53–30 Pa tartományban) a forgás sebességéből, a Couette-rendszer geometriájából (rés köpeny) és a minta viszkozitásából számítható ki. Ehhez a mérések elején meg kell adni az oldat viszkozitását. A készülék temperált, a mérések 37 °C-on történnek.

Dunpress Egyetemi Jegyzetek



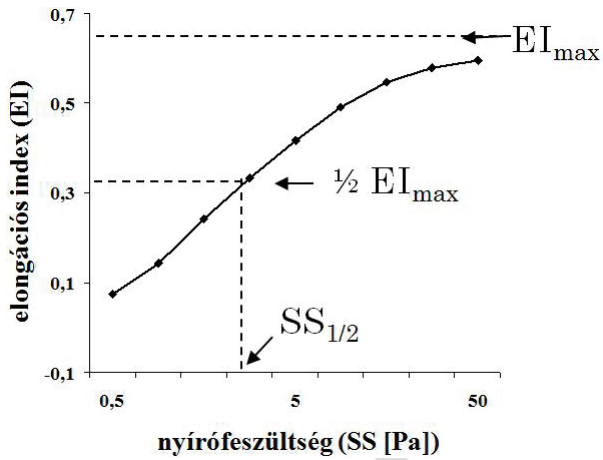
24. ábra: A Rheoscan-D200 slit-flow ektacytometer (A) és működési elve (B)



25. ábra: A LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometer (A) és működési elve (B)

DUPRA jegyzetek

Az elongatiós index (EI) – nyírófeszültség (SS) adatok összehasonlítása történhet egy adott nyírófeszültség értéknél mért EI megadásával, vagy a teljes EI-SS görbe parametrizálásával. Ehhez a Lineweaver-Burke (L-B) féle analízis használható *(26. ábra).*



26. ábra: A maximális elongatiós index (EI_{max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ($SS_{1/2}$ [Pa]) értelmezése az ektacytometriás mérések során nyert görbék parametrizálásaként

A kalkulácó során meghatározásra kerül a maximális elongatiós index (EI_{max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség (shear stress, SS) érték ($SS_{1/2}$ [Pa]) az alábbi képlet alapján:

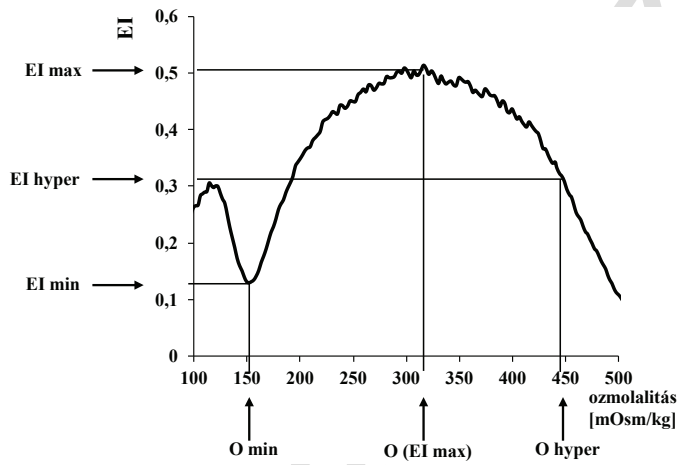
$$1/EI = SS_{1/2} / EI_{max} \times 1/SS + 1/ EI_{max}$$

A reciprokértékek miatt az 1 Pa alatti adatok gyakran torzítanak, az illesztett görbe eltérő meredekségéhez vezet, ezért az értékeléshez használt nyírófeszültség tartományt általában 0,95-30 Pa között értelmeztük. Deformabilitás romlást jelez az EI_{max} csökkenése és az $SS_{1/2}$ emelkedése. További elemzéshez Az EI_{max} és az $SS_{1/2}$ egymáshoz viszonyított aránya is használható.

A LoRRca készülékkel végezhető *ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérésekhez* 250 µl mennyiségű vért szuszpendálunk 5 ml PVP oldatban. A módszer során az EI mérése állandó nyírófeszültség mellett (pl. 30 Pa) történik, miközben a szuszpendáló közeg ozmolalitása változik. Ezt a vér-PVP szuszpenzió, valamint 0 és 500 mOsm/kg ozmolalitású PVP oldat folyamatos adagolásával éri el a készülék. Az így kapott jellegzetes elongatiós index-ozmolalitás görbék *(27. ábra)* az alábbi paraméterekkel jellemezhetőek:

DUPress e, zetek

– maximális EI (EI max) – ami nem azonos az L-B analízissel nyert EI_{max} értékkel
– az EI max felét adó EI érték a hyperozmolaris irányban (EI hyper)
– minimális EI érték a hypoozmolaris irányban (EI min)
– az ezekhez tartozó ozmolalitás értékek: O (EI max), O hyper, O EI min
– a görbe alatti területből számolt Area



27. ábra: Ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérés során nyert elongatiós index (EI) – ozmolalitás [mOsm/kg] görbe és nevezetes paraméterei

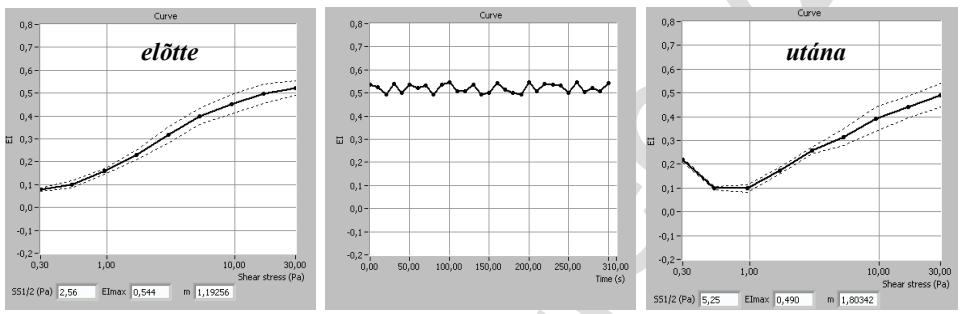
Ezek ismeretében az osmoscan görbék morphologiáját és főképpen a minimális és maximális elongatiós index közötti görbeszakasz jellegzetességeit tovább elemezve kalkulálható további paraméter:

– ΔEI = a maximális és a minimális EI értékek közötti különbség
– ΔO = a maximális és a minimális EI értékekhez tartozó ozmolalitás értékek különbsége
– ΔEI / ΔO
– EI max / EI min = a maximális és a minimális EI értékek egymáshoz viszonyított aránya (rEI)
– O (EI max) / O min = a maximális és minimális EI értékekhez tartozó ozmolalitás értékek egymáshoz viszonyított aránya (rO)
– rEI / rO

DUPress © Tények

8.2.3. Vörösvérsejt membrán (mechanikus) stabilitási teszt

A *membrán stabilitás (mechanikus stabilitás) teszt* során két hagyományos deformabilitás mérés történik, amelyek között adott nagyságú és időtartamú nyírófeszültséggel zajlik a mechanikus stressz előidézése *(28. ábra)*. Az expozíciós idő és a nyírófeszültség nagysága változtatható. Gyakran használt kombinációk: 60 Pa 300 másodperc és 100 Pa 300 másodpercig. A kapott EI-SS görbék analízise a fentiekben ismertetett módon történik. Kiszámítható továbbá a mechanikus stressz előtti és utáni értékek egymáshoz viszonyított aránya is.



28. ábra: A membránstabilitás teszt alkalmazása során kapott reprezentatív kép: adott időtartamig meghatározott nyírófeszültséggel alkalmazott mechanikus stressz során monitorozott elongatiós index értékek (középen), valamint a stressz alkalmazása előtt és után meghatározott elongatiós index – nyírófeszültség görbék

8.3. A vörösvérsejt aggregatio meghatározásának módszerei

A vörösvérsejt aggregatio meghatározására számos indirekt és direkt módszer ismert.

8.3.1. Indirekt módszerek

A már említett erythrocyta szedimentációs ráta (ESR) mérésén alapuló klasszikus és modern módszerek (Westergren, Seditainer, Automata ESR) széles körben használatos, jól standardizált eljárások.

Emellett ismert a zeta szedimentációs ráta (centrifugálás révén) meghatározása és az alacsony sebesség-grádiensnél (pl. 1 s^{-1}) mért vérviszkozitás eredményeiből való indirekt aggregatiós paraméter meghatározása (aggregatiós index = $(\eta_{alacsony} - \eta_{magas}) / \eta_{magas}$, ahol η egy adott alacsony illetve egy magasabb sebesség-gradiens mellett meghatározott vérviszkozitás).

DUPress Grafizek

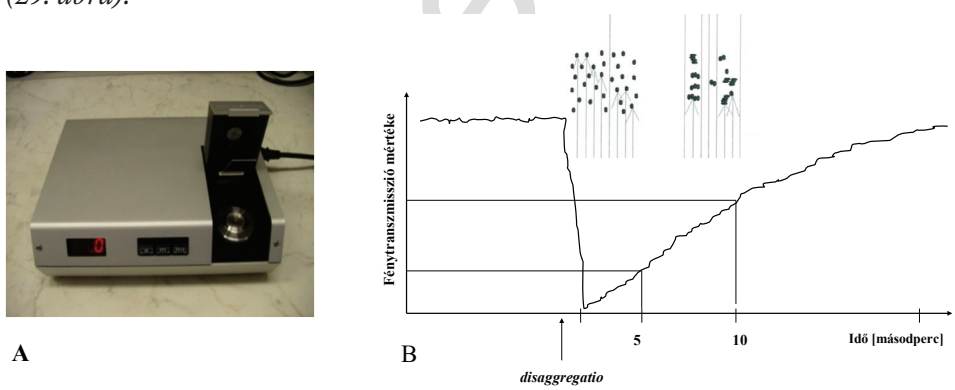
Mikroszkópos technikákkal vagy rheoscoppal az aggregatumok morfológája is vizsgálható, méretük és az aggregatumonkénti vörösvérsejtszám meghatározható. Ezzel a módszerrel a heteroaggregatumok (fehérvérsejt, thrombocyta, vörösvérsejt) is elkülöníthetőek.

Ultrahangos módszerek non-invazív *in vivo* vizsgálatokra adnak lehetőséget (főleg B-módú echográfia) adott vascularis területen belül létrejövő aggregatióról.

A klinikai és kísérletes haemorheologiai vizsgálatokban a leggyakrabban alkalmazott módszerek fotometriás elven alapulnak. A vérminta adott hullámhosszra vonatkozó fényáteresztőképességét fokozza az aggregatumok jelenléte, hiszen ilyenkor a particulumok közötti plazma fázis (vagy más szuszpendáló medium) szélessége nő. Disaggregatio során a nagyobb felületen szétszórt sejtek ezt csökkentik. Ezen alapulva a különböző módszerek vagy a fénytranszmissziót (pl. Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer), vagy a fény (lézer) visszaverődését elemzik (syllectometria, pl. LORCA). Ezekkel a módszerekkel az aggregatio mértéke és dinamikája is vizsgálható.

8.3.2. Fénytranszmissziós aggregometria

A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer (Myrenne GmBH, Németország) fénytranszmissziós elven, Schmid-Schönbein által leírt módszer szerint működik *(29. ábra).*



29. ábra: A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregométer (A) és a vörösvérsejt aggregatio révén a minta változó infravörös-fénytranszmisszióján alapuló működési elve (B)

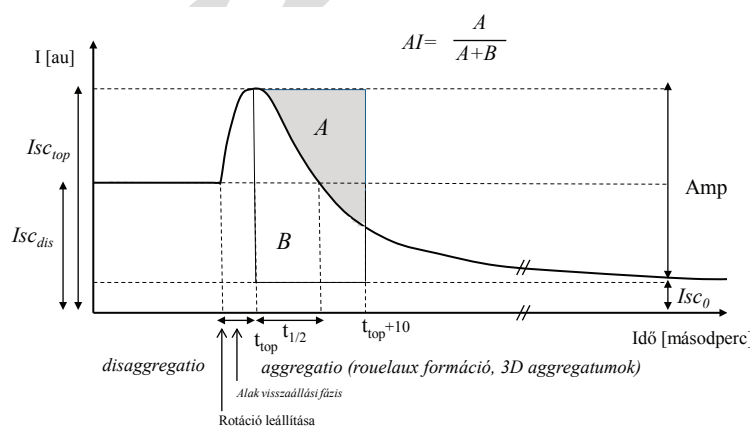
A készülék vérmintát befogadó része egy 2°-os csiszolt üveg lencséből és egy ráhajtható üveg tárgylemezből áll (cone-plate rendszer). A mintegy 20 µl anticoagulált (K_3-EDTA, 1,5–1,8 mg/ml) vérmintát a lencse közepére cseppentjük, majd a tárgylemez ráhajtásával a minta kör alakban szétterül, széle felé növekvő vastagságban a lencse domborulata mentén. A tárgylemez felett egy

DUPLA sajtóvizsgálatok

infravörös dióda, a lencse alatt egy infravörös detektor helyezkedik el. A lencse egy rotor által forgatható egységbe van ágyazva, amely meghatározott szögsebességgel forgómozgást végez 600 s^{-1} sebesség-gradienst generálva a mintára, amelyben így a vörösvérsejtek disaggregalódnak, a minta fénytranszmissziója csökken. Amint a rotor leáll, a sejtek aggregálódni kezdenek, köztük a plazma fázis szélessége nő, így a fényáteresztőképesség is fokozódik. A disaggregált állapothoz képest a folyamat 5. vagy 10. másodpercében meghatározott intenzitás adatokból származtathatóak az aggregatiós index értékek. A mérésekhez két üzemmód választható: amennyiben a rotor teljesen leáll, azaz a sebesség-gradens 0 s^{-1}, M módról, ha lassan forog 3 s^{-1} sebesség-gradiens mellett, M1 módról beszélünk. Így összesen négy index paraméter határozható meg: M 5s, M1 5s, M 10s, M1 10s. Fokozott vörösvérsejt aggregatio esetén ezek az index paraméterek növekednek. A készülék nem temperált.

8.3.3. Syllectometrián alapuló aggregometria

A *LoRRca* készülékkel történő mérés az aggregálódó vörösvérsejteket tartalmazó vérmintáról visszaverődő lézer szóródásának elemzésén alapul (syllectometria) *(30. ábra)*. A mérőkamrába 1 ml anticoagulált vérmintát kell tölteni. Betöltés előtt érdemes a mintát pár másodpercig oxigenizálni (a minta átforgatásával), hogy az adott hullámhosszú (670 nm) lézer visszaverődése jobban kimutatható legyen. A mérések 37 °C-on történnek. A külső henger (cup) forgómozgásával (beállítható, rutinszerűen: 10 s, 500 s^{-1}) a mintában lévő vörösvérsejtek disaggregalódnak, majd a rotor leállásával aggregalódni kezdenek. A statikus hengerből eredő lézer mintáról visszaverődő nyalábjait szintén a belső cilinderbe épített két fotodióda



30. ábra: A LORCA készülékkel végzett syllectometriás aggregometria elve és a meghatározható paraméterek értelmezése

DL's Egyetemi Jegyzetek

érzékeli. A folyamat mintegy 120 másodpercig követhető, jellegzetes intenzitás-idő görbét rögzítve *(30. ábra)*.

A készülék által meghatározott legfontosabb paraméterek:

- *aggregatiós index (AI, [%])*: az intenzitásmaximum megjelenésétől a 10. másodpercig visszaverődő fény intenzitásváltozásából ($Isc_{top} - Isc_0$) származó görbe feletti terület (*A*) görbe feletti és alatti terület (*B*) összegéhez viszonyított aránya: $AI = A/(A+B)$.
- *amplitudo (Amp, [au])*: a maximális és minimális intenzitás értékek közötti különbség a vizsgált 120 másodperc során.
- *fél-ampitudo idő ($t_{1/2}$, [s])*: a maximális és minimális intenzitás értékek közötti különbség felének eléréséhez szükséges idő a maximális intenzitás értékek megjelenésétől.

Fokozott vörösvérsejt aggregatio esetén az AI, az Amp növekszik, a $t_{1/2}$ általában csökken.

8.4. A microcirculatio vizsgálata

A mikrokeringés nagyléptékű fejlődést mutató modern mérő-, vizsgálómódszerei (pl. laser Doppler technikák: hagyományos laser Doppler, fast full-field laser Doppler perfusion imaging, laser speckle contrast analysis – LASCA; intravitális videomikroszkópia módszerek: hagyományos videomikroszkópia, orthogonal polarization spectral – OPS imaging, sidestream dark-field – SDF videomikroszkópia; optikai microangiographiás módszerek) átfogó betekintést adnak egy szöveti terület mikrokeringési mintázatáról *(VII. táblázat)*. Ugyanakkor az ott áramló vér tulajdonságainak megismerése és megértése nélkül nem lehet teljes a kép.

Videomikroszkópos technikák

A mikrokeringés direkt, non-invazív vizualizációjára különböző *in vivo* (intravitális) videomikroszkópos (IVM) módszerek ismertek. Ezek nemcsak a mikroerek architecturájáról adnak képet, de alkalmasak dinamikus funkcionális paraméterek vizsgálatára is. A formáit és jellemezőit a VII. táblázat tartalmazza.

A fluoreszcens technikáknál a vér alakos elemeit különböző fluoreszcencia marker anyagokkal jelölik. A vörösvérsejteket fluoreszcein-isothiocyanáttal

DUPress e-jegyzetek

VII. táblázat. Módszerek a microvasculatura funkcionális vizsgálatára

Módszer	Faj/szövet	Paraméterek	Jellegzetesség, limitáció
Bőr (nailfod) video-capillaroscopia	humán körömszegély-bőr	capillaris eloszlás (denzitás), morphologia, áramlási sebesség	csak humán alkalmazás
Hagyományos fluoreszcens IVM	állatok felületes szöveti rétegei	funkcionális capillaris denzitás (FCD), vörösvérsejt sebesség, microvascularis permeabilitás, leukocyta-endothel interakciók	korlátozott képalkotó mélység (~100-200 µm) fluoreszcens jelölés szükséges labeling, „fény toxicitás”, mozgásból fakadó artefactumok (perisztaltika, légzés), offline analízis szükséges
Konfokális mikroszkópia		morphologia, microvascularis permeabilitás, subcellularis folyamatok	a hagyományos fluoreszcens IVM-nél jelzetteken túl: chromophor származékok, fénykárosodás, jelátfedés a szöveti endogén fluoreszcenciával, fluoreszcens proteinek korlátozott alkalmazása
OPS, SDF, IDF	humán és állatok felületes szöveti rétegei	vascularis denzitás, érgeometria, vörösvérsejt sebesség, microvascularis áramlás	korlátozott képalkotó mozgásból fakadó artefactumok, offline analízis
Laser Doppler perfúzió monitor (LD perfusion monitoring)		flux (a mozgó vörösvérsejtek számának és sebességének integráltja)	nagyszámú szöveti és mérési befolyásoló tényező, mozgásból fakadó artefactumok, kvantitatív paraméterek hiánya, hiányos ismeretek a mérés szöveti mélységéről és a biológiailag zéró szignálról
LD perfusion imaging, Laser speckle imaging		perfúzió	
Reflectancia spektroszkópia		haemoglobin oxigén szaturáció, regionális haemoglobin tartalom, áramlási sebesség	
NIRS	humán és állat vázizom, agy	microvascularis reaktivitás, áramlás, vascularis compliance	alacsony térbeli felbontás
Protoporphyrin IX-Triplet State Lifetime Technique	humán és állat bőr	mitochondrialis oxigén tenzió (5-aminolevulin-sav alkalmazásával)	helyi alkalmazás

IVM: intravitalis videomikroszkópia, OPS: orthogonalis polarizációs spektralis technika, SDF: sidestream dark-field imaging, IDF: incident dark-field technology, NIRS: near-infrared spectroscopy

DUPrese jegyzetek

(FITC), a polymorphonuclearis fehérvérsejteket rhodamin 6G-vel vagy akridinnaranccsal, a thrombocytákat rhodamin 6G-vel (*ex vivo*), a plazmaproteineket FITC-dextránnal (40-2000 kDa), tetramethyl-rhodamin-jelölt BSA-val (bovine serum albumin), vagy FITC-albuminnal.

Az orthogonalis polarizációs spektralis (OPS) technika (Groner, 1999)), az SDF (Goedhart, 2007) és az incident dark-field (IDF) (Hernandez, 2013) technológiánál a microvasculatura a haemoglobint tartalmazó vörösvérsejtek jelenléte alapján vizualizálható. A módszerrel így csak azok a képletek látszanak, amelyekben mozgó vörösvérsejtek vannak jelen. A szövetet polarizált fénnyel világítják meg, a fotonok egy része elnyelődéik, nagyobb része visszaverődik a mélyebb rétegekből (2-3 mm). A visszaverődő polarizált fényt blokkolja egy orthogonalisan polarizált analizáló, míg a mozgó vörösvérsejtekről visszverődő depolarizált fényt detektálja a kamera. A technika fejlettebb változatai az SDF és az IDF módszerek.

A különböző videomikroszkópos módszerekkel (technológiától függően) meghatározható fő paraméterek:

- vörösvérsejt (vagy plazma) sebesség (RBCV) [μm/s]
- teljes és funkcionális ér-denzitás (total vascular density) [mm/mm^2]
- funkcionális capillaris denzitás [mm/mm^2]
- De Backer score: ér-denzitás [1/mm]
- microvascularis áramlási index (MFI) [au]
- perfundált erek aránya nagyobb erekre, illetve érhosszra (PPV) [%] (a perfundált erek száma vagy hossza / összes erek száma vagy hossza)
- perfundált ér-denzitás (ér-denzitás x PPV) [1/mm]
- áramlási heterogenitási index
- jelölt sejtek esetén: leukocyta (PMS) rolling [1/mm/s vagy %] és adhézió [1/mm^2]

Laser Doppler fluxmetria

Alapja az ultrahang technikánál ismert Doppler-shift (1942). A monochromatikus lézer-nyaláb a szövetekbe lépve részben elnyelődik, részben visszaverődik. A mozgó vörösvérsejtekről visszverődő nyalábokban frekvenciaváltozás lép fel, amit a készülék detektál. A mozgó vörösvérsejtek számának és mozgási sebességének (függetlenül annak irányától) integráltjaként flux-ot, egyfajta perfúziós egységet fejez ki, nem valódi áramlási paramétert. Ez a blood flux unit (BFU), ami dimenzió nélküli szám (Stern, 1975). Két fő fajtája ismert: LD monitor, LD perfusion imaging.

Dunapress szegyzetek

A laser Doppler módszer a klinikumban és a kutatómunkában is széles körben alkalmazható lokális vagy szisztémás hőhatás, reflexes vazodilatáció, érelzáródást/érelzárást követő mikrokeringési változások vagy vasoaktív szerek hatásának vizsgálatára.

A módszer meglehetősen érzékenyen jelzi a mikrokeringésben bekövetkező változásokat, ugyanakkor számos tényező befolyásolhatja a méréseket. Egyrészt a vizsgált szövet vastagsága, anatómiai felépítése, optikai tulajdonságai (pigmentáció), esetleges morfológiai elváltozásai, erezettsége. A páciens részéről a nem, a kor, hormonális és idegi hatások, gyógyszerek hatással lehetnek a mérés eredményére. A készülék oldaláról a vizsgálófej elmozdulása, szennyeződése, a száloptika megtöretése, a kibocsátó és fogadó optikai rostok távolsága, a lézer fény hullámhossza, színe, a biológiai nulla jel (biological zero signal), szintén befolyásoló tényezőként szerepelnek. Zavaró műtermékek „zajok" keletkezhetnek az optikai rost vagy az érintett szövet mozgása (pl. légzés, bélperisztaltika) révén. Külső tényezők, mint a hőmérséklet, páratartalom, légmozgás is hatással vannak a mérésre, ezért nagyon fontos a standard körülmények biztosítása. Nehézséget jelent azonban összehasonlító vizsgálatok kivitelezése (pl. beavatkozás előtt-után), mivel nehezen megoldható a minden paraméterében azonos körülmények biztosítása.

A szöveti mikrokeringés akut változásával járó patofiziológiai folyamatokban, mint például a szepszis vagy az iszkémia-reperfúzió a lézer Doppleres vizsgálómódszernek komoly létjogosultsága van. A kísérletes modellekben a különböző változatban elérhető mérőfejek többféleképpen alkalmazhatóak:

- Közvetlenül a bőr, vagy nyitott műtéteknél a szerv felszínére érintve (kézi, vagy a preferált állványos rögzítéssel)
- Szerv felszínére rögzített mérőfej (öltések)
- Laparoszkópos úton trokáron keresztül bevezetve a vizsgált hasüregi szerv vagy a peritoneum felszínéhez érintve
- Endoszkópos úton bevezetve a mucosa felszínéhez érintve (többcsatornás endoszkóp, száloptikás mérőfej)
- Szövetrétegek közé vagy csontfuratba ültetve monitorozáshoz

Függően az alkalmazott lézer hullámhosszától, a vizsgálható szöveti terület mélysége 0,1-0,8 mm között változhat, pl. 780 nm hullámhosszú lézer alkalmazásával ez a szöveti mélység 0,5 mm átmérőjű mérőfej esetén izomban 0,73 mm, májban 0,52 mm, míg bőrben 0,55 mm. Fontos figyelembe venni a vizsgálat időtartamát és a mérőfej pozícionálását. A 0,5 mW-os energia a lézerfényből ered, az adott szöveteken egy idő után befolyásolhatja a kapillárisok állapotát is.

DUPlicity Kiadványok

A mérőfej stabilizálása fontos. A szöveteket túlzottan megnyomva lokális mikrokeringési zavar keletkezhet, a túl laza, elmozduló felhelyezés pontatlan méréseket, nagyszámú artefactum megjelenését okozhatja.

A rögzített jel interpretálására több megoldás ismert az irodalomban. A legegyszerűbb mód, amikor a készülék által mért abszolút értékeket (amely önmagában is relatív, dimenzió nélküli szám) adjuk meg, és egy adott időtartamban mért értékeket, mint adathalmazt értékeljük. Ezen szakaszon belül (pl. 10 vagy 20 másodperces stabil szignál adatai) az értékek átlagolhatóak. De alkalmazhatunk mozgó átlagot, Fourier transzformációt, illetve különböző idősor analízis technikákat is.

A különböző szervek vonatkozásában eltérő mintázatú jel rögzíthető, függően a microvasculatura funkcionális és morfológiai állapotától. Ezért fontos megfigyelni a rögzített jel karakterisztikáját és dönteni az adatelemzés és adatinterpretálás mikéntjéről is.

A hosszabb ideig tartó monitorozás során, amikor a készülék mérőfeje stabil, állandó pozícióban rögzítik és a mikrokeringést akár félóráig, vagy annál tovább is monitorozzák, a változások mértékét, dinamikáját is külön lehet elemezni. Különösen nagy jelentősége van ennek a szempontnak azokban a vizsgálatokban, amelyek különböző anyagok, sebészi manőverek, szervi mikrocirkulációs hatásainak követésére irányulnak.

Tekintettel arra, hogy számos tényező befolyásolja a mért értékeket, értékes adatelemző módszer a kiindulási értékekhez viszonyított változások vizsgálata. Így százalékos arányban fejezhető ki, hogy az adott szöveti terület mikrokeringése mekkora mértékű változáson megy keresztül egy műtét, egy ér leszorítás-felengedés során. Itt nagyon fontos szempont magának a kiindulási értéknek a megjelölése, hiszen mint ismertetésre került, egyik szöveti területen sem állandó a laser Doppler szignál intenzitása, kisebb nagyobb mértékben szabálytalanságok, periodicitások és artefactumok jelenhetnek meg. Bármely adatelemzési és interpretálási módszert is választjuk, annak konzekvens, standardizált jellege alapvető feltétel.

A laser Doppler perfusion imaging (LD scanner) technológia alkalmas a mikrokeringés vizsgálatára úgy, hogy a vizsgálófej nem érinti a szöveti felszínt. Néhány cm-rel a felszín fölé helyezett LD scanner a felületes szöveti rétegek perfúzióját, annak mértékét színskálázott képként mutatja. Klinikai alkalmazása a Raynaud-jelenség illetve Raynaud-kór vizsgálatában, diagnózisában fontos. Kísérletekben altatott kisállat is a kamera alá helyezhető, és a borotvált bőrfelület mikrokeringése vizsgálható különböző modellekben (pl. ischaemia-reperfusio, művi AV-shuntok).

DUPress e-jegyzetek

Az LD módszer kombinálható reflektancia spektrometriával. További technológia a laser speckle imaging módszer.

Közeli infravörös spektroszkópia (Near-Infrared Spectroscopy)

Ez a non-invazív módszer a microcirculatio területén jelenlévő haemoglobin redox státuszát méri, meghatározva az oxihaemoglobin, deoxihaemoglobin, teljes haemoglobin és más chromophorok (myoglobin, cytochrome aa3) mennyiségét.

További microcirculatiós mérőmódszerek

Számos további módszer és technológia használatos a microcirculatio funkcionális és morphologiai állapotának vizsgálatára:

- szöveti oxigéntenzió és szaturáció mérés
- *in vivo* mitochondriális funckó vizsgálat (Protoporphyrin IX–Triplet State Lifetime Technique)
- Subsurface Spectroscopy (Tissue Viability Imaging)
- Optical Microangiography
- Photoacoustic Tomography
- High Frequency Ultrasound Imaging
- Micro-CT
- Nano-SPECT-CT
- NMR

DUPress e-jegyzetek

DUPress e-jegyzetek

9. Komparatív és kísérletes haemorheologia

A jól definiált, állatvédelmi szempontból és laborállat-tudományi megfontolásokból korrekten felállított állatkísérletek jelentősége napjainkban is meghatározó. Számos olyan kérdés van, amely nem vizsgálható *in vitro* módszerekkel, vagy szövetkultúrákon: elegendő információ csak összetett vizsgálatokkal nyerhető szervrendszereken vagy szerveken *in vivo*. A kérdések extrapolálhatósága, azaz az eredeti klinikai kérdésre, humán vonatkozásokra való vetítése további meghatározó tényező.

Az előző fejezetekben bemutatott, a vörösvérsejt deformabilitást és a vörösvérsejt aggregatiót determináló faktorok ismeretében érthető, hogy a laboratóriumi állatfajok vonatkozásában jelentős faji különbségekre kell számítani. Ezek pontos ismeretében kell mérlegelni a mérési módszerek szükség szerinti adaptációját, módszertani standardizációját.

Humán vonatkozásban a jelenleg ismert haemorheologiai mérőmódszerekre vonatkozóan elérhető egy méréstechnikai útmutató, amely kitér a mintavételi és mintakezelési ajánlásokra is. Állatkísérletes vonatkozásban ilyen útmutató azonban nem áll rendelkezésünkre, ezért a faji- és nemi haemorheologiai különbségek feltárása mellett meg kell vizsgálni a kísérletek során szükséges vérminták kezelési és előkészítési részleteit is, amelyek vonatkozásában szintén számottevő faji különbségek vannak. Ezek komoly mértékben befolyásolhatják az eredményeket, azok értékelését és extrapolálhatóságát. További fontos kérdés a vérvétel módja és helye. Az állatkíméleti szempontokból alapvető kérdéseken, mint a levehető vérmennyiség és az ismételhetőség problémakörén túlmenően, számolni kell a keringési rendszer különböző régióiban eltérő haemorheologiai jellemzőkkel is. A változások kimutathatóságában fontos szempont a haemorheologiai mérőműszerek eltérő érzékenysége és specifikációja, mint például a sejtméret/pórusméret arány a filtrometria során, vagy a sejtek orientációja és a szuszpendáló közeg viszkozitása az elongatiós index ektacytometriás vizsgálatainál.

DUPress e-jegyzetek

9.1. Komparatív haemorheologia

9.1.1. Faji különbségek

A vér áramlástani tulajdonságainak faji diverzitása nagy. Az irodalomban fellelhető komparatív haemorheologiai közlemények főként a magvatlan bikonkáv vörösvérsejtekkel rendelkező emlősök haemorheologiai különbségeivel foglalkoznak. A halak, kétéltűek, hüllők és madarak vörösvérsejtjeiben nucleus található, alakjuk ovalocyta, volumenük is általában nagyobb, mint az emlősök erythrocytáinak *(VIII. táblázat)*.

Az ovalocyta jellemezhető deformabilitással, azonban az alaki sajátságok miatt aggregatióra nem képes, szemben a bikonkáv sejtalakkal.

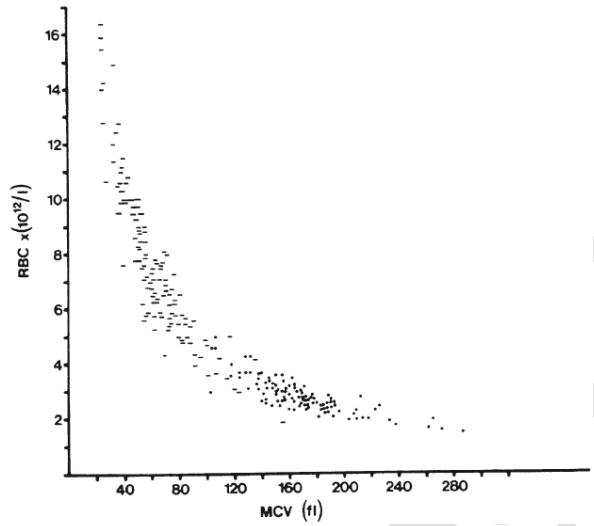
VIII. táblázat. Különböző gerinces fajok vörösvérsejtjeinek átlagos mérete, vér haemoglobin koncentrációja és átlagos corpuscularis haemoglobin koncentrációja (MCHC) (Snyder GK, Sheafor BA, Amer Zool. 1999;39:189–198.)

Taxonomiai csoport (vizsgált fajok száma)	**Vörösvérsejt méret [µm]**	**Haemoglobin koncentráció [g/dl]**	**MCHC [%]**
Agnatha (2)	21,4 ± 7,3 × 14,2 ± 8,9	4,6	21
Chondrichthyes (25)	20,1 ± 4,2 × 14,9 ± 0,2	3,2 ± 1,6	21,2 ± 4,9
Osteichthyes (33)	12 ± 2 × 8,5 ± 1,6	6,4 ± 3,3	23 ± 7,1
Amphibia			
Caudata (6)	48,1 ± 13,3 × 30,8 ± 11,1	8,3 ± 3,4	21,2 ± 5,8
Gymnophiona (2)	36 ± 19,8 × 29 ± 14,8	10,8 ± 0,7	28 ± 3
Anura (3)	23 ± 4,3 × 13,7 ± 2,2	7,6 ± 0,8	27,6 ± 2,3
Reptilia			
Squamata (24)	18,4 ± 2,2 × 12,1 ± 1,1	7,8 ± 2,6	32,3 ± 5
Testudines (7)	18,3 ± 1,9 × 11,4 ± 2,1	6,7 ± 1,2	26,5 ± 7,7
Crocodylia (3)	20,1 ± 2,7 × 10,6 ± 1,1	11 ± 4	35,5 ± 9,2
Aves (19)	13,5 ± 1,5 × 7,5 ± 2,9	13,1 ± 0,9	34,3 ± 3,3
Mammalia (25)	6,3 ± 1,5	12,9 ± 1,9	32,7 ± 2,7

átlag ± S.D.

Fontos megjegyezni, hogy a VIII. táblázat összegző adatokat mutat. Az egyes taxonomiai csoporton belül is igen nagy diverzitás látszik. A vörösvérsejtek száma és az átlagos corpuscularis térfogata (MCV) között negatív exponenciális korreláció mutatkozik *(31. ábra, IX. táblázat)*.

DUPress előjegyzés



31. ábra: Különböző madár és emlős fajok vörösvérsejtszáma (RBC) az átlagos corpuscularis térfogata (MCV) függvényében (Baskurt és Meiselman, Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:61-70.)

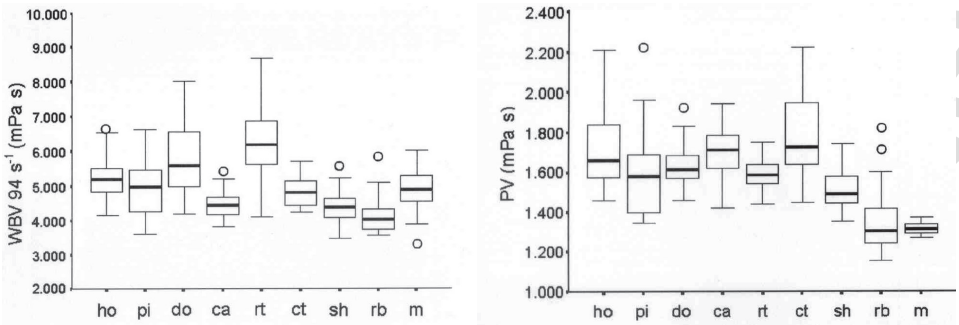
IX. táblázat: Vörösvérsejtszám (Vvs), haematocrit (Htc), haemoglobin koncentráció (Hgb), átlagos corpuscularis térfogat (MCV), átlagos corpuscularis haemoglobin tartalom (MCH) és átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció (MCHC) különböző állatfajokban és az emberben (Németh N, Kiss F, Miszti-Blasius K, Scand J Clin Lab Invest 2015;75:213-222.)

Paraméter	patkány	kutya	sertés	ember
Vvs [10^6/µl]	7,13 ± 0,53 *	6,9 ± 0,35 *	5,84 ± 0,65 *	4,99 ± 0,68
Htc [%]	48,49 ± 2,11	52,57 ± 3,64 *	37,86 ± 4,1 *	47,38 ± 7,63
Hgb [g/dl]	12,96 ± 0,37	13,69 ± 0,12	9,12 ± 0,64 *	12,51 ± 1,27
MCV [fl]	68,22 ± 5,22 *	76,05 ± 1,69 *	65,08 ± 6,55 *	94,63 ± 6,98
MCH [pg]	18,23 ± 1,22 *	19,82 ± 1,39 *	15,73 ± 1,47 *	24,88 ± 1,78
MCHC [g/dl]	26,78 ± 1,14	26,05 ± 1,81	24,26 ± 2,01 *	26,39 ± 2,65

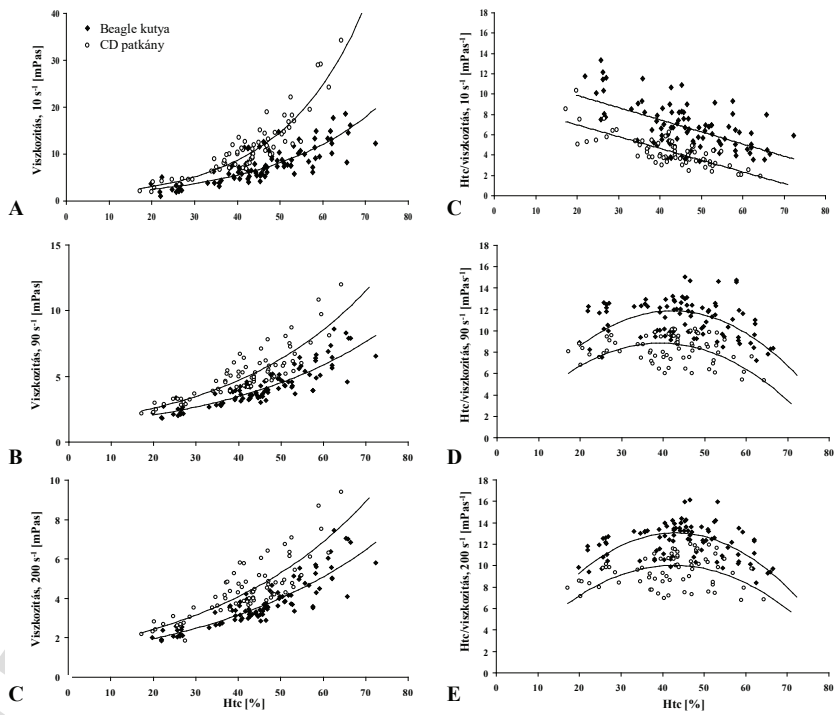
átlag± S.D., *p<0,05 vs. ember

A *32. ábra* különböző állatfajok vér- és plazma viszkozitás adatait mutatja be. A vizsgált fajok teljes vér viszkozitása nem minden tekintetben áll összhangban a haematocrittal vagy a plazma viszkozitással, amely felveti a viszkozitás-haematocrit kapcsolat fajspecifikus sajátságainak lehetőségét, valamint alátámasztja a micro-rheologiai paraméterek eltérő mértékű viszkozitás-befolyásoló

DUPress Kiadványok



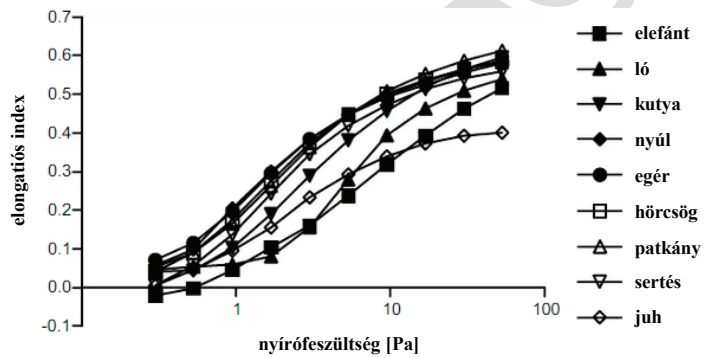
32. ábra: Különböző emlős fajok (ló, sertés, kutya, macska, patkány, szarvasmarha, juh, nyúl és egér) teljes vér és plazma viszkozitása (Windberger és mtsai, Exp. Physiol. 2003;88:431-440.)



33. ábra: CD outbred patkány (n=12) és beagle kutya (n=12) vérviszkozitás [mPas] (A-C) és haematocrit/vérviszkozitás [$mPas^{-1}$] (D-F) 10, 90 és 200 s^{-1} sebesség-gradiensnél mért értékei a haematocrit (Htc) függvényében. (Németh N, Alexy T, Furka A, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I,, Biorheology 2009;46:155–165.)

hatását. Ahogy egy korábbi fejezetben szó esett róla, a vér oxigénszállító kapacitása szempontjából fontos paraméter a teljes vér viszkozitás haematocrithoz való viszonya, amely jó közelítéssel exponenciális karakterisztikájú görbével jellemezhető. A haematocrit/viszkozitás hányados a haematocrit függvényében parabolikus profilt mutat. A görbe csúcsa az „optimális haematocrit"-nak felel meg, ahol a lehető legmagasabb haematocrit a lehető legalacsonyabb viszkozitással párosul az oxigénszállító kapacitás és a vér fluiditása szempontjából. Számos kórképben megfigyelték, hogy az „optimális haematocrit" jelentősen eltolódik az élettani értékekhez képest. Kimutatásra került, hogy az „optimális haematocrit" különbözik a fajok között, mely különbség függ a sebesség-gradienstől *(33. ábra)*.

A vörösvérsejt deformabilitás is jelentős faji diverzitást mutat (*34. ábra, X. táblázat*). A sejteket érő mechanikus stressz deformabilitást rontó hatása is eltérést mutat a fajok között (*35. ábra*).



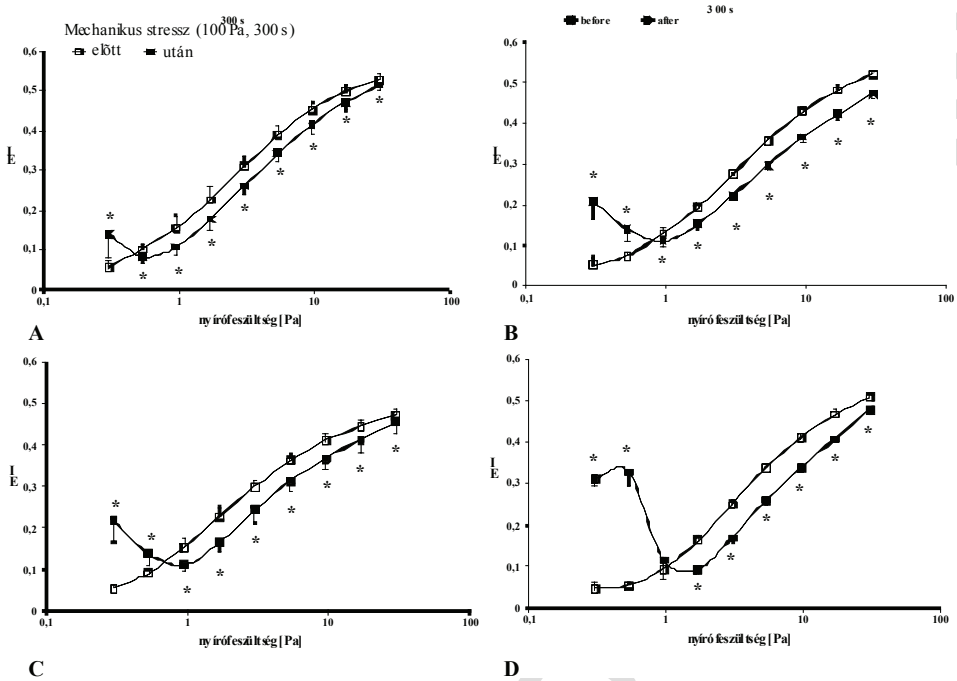
34. ábra: Vörösvérsejt deformabilitás különböző fajokban az elongatiós index (EI) – nyírófeszültség (SS [Pa]) görbék alapján. (Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, 2007)

X. táblázat: Hagyományos ektacytometriával meghatározott deformabilitási paraméterek –elongatiós index (EI) 3 Pa-nál, maximális elongatiós index (EI_{max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték ($SS_{1/2}$ [Pa]), ezek egymáshoz viszonyított aránya – különböző állatfajokban és az emberben. (Kiss F, Tóth E, Miszti-Blasius K, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2016;62:215-227.)

Paraméter	patkány	kutya	sertés	ember
EI 3 Pa-nál	0,346 ± 0,025*	0,218 ± 0,019*	0,331 ± 0,014*	0,319 ± 0,019
EI_{max}	0,541 ± 0,017*	0,51 ± 0,017*	0,47 ± 0,021*	0,538 ± 0,026
$SS_{1/2}$ [Pa]	2 ± 0,39	4,35 ± 0,6*	1,81 ± 0,25*	2,23 ± 0,47
$EI_{max}/SS_{1/2}$ [Pa^{-1}]	0,28 ± 0,05*	0,119 ± 0,018*	0,263 ± 0,029	0,254 ± 0,068

átlag ± S.D., #p<0,05 vs. ember

Dunpress Egyetemi Kiadó



35. ábra: Sprague-Dawley outbred patkány (n=6, nőstény) (A), beagle kutya (n=8, hím) (B), Hungahib sertés (n=11, nőstény) (C) és ember (n=7, nő) (D) vérmintáinak elongatiós index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után.

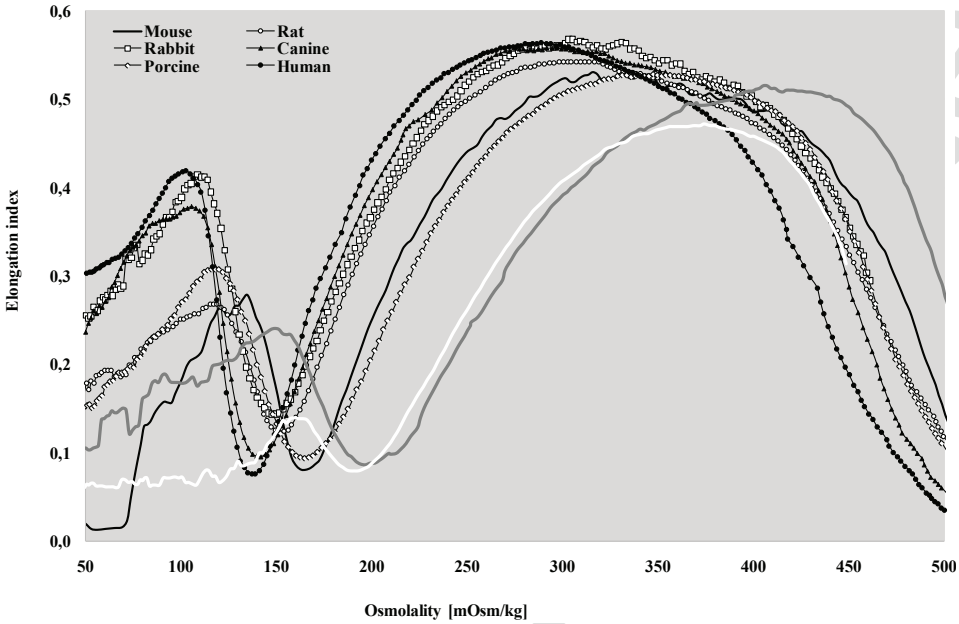
átlag±S.D., * p<0,05 vs. mechanikus stressz előtti értékek
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016;63(4):381–398.)

Az ozmotikus gradiens ektacytometriás mérések során kapott ún. osmoscan görbék alakja és paraméterei között is megfigyelhető a nagyfokú faji diverzitás *(36. ábra).*

A haemorheologiai paraméterek közül azonban a vörösvérsejt aggregatio mutatja a legszínesebb faji diverzitást *(XI.* és *XII. táblázat, 37.* és *38. ábra).*

Ismertek állatfajok, amelyek vörösvérsejtjei nem vagy alig aggregálódnak (pl. egér, juh, kecske, szarvasmarha), másoké közepes mértékű (pl. patkány, kutya, sertés), vagy nagyfokú aggregatióra képes (pl. macskafélék, antilop, ló) *(37.* és *38. ábra*).

DUPress



36. ábra: Különböző állatfajok és az ember reprezentatív osmoscan görbéi (tanszéki mérések alapján)

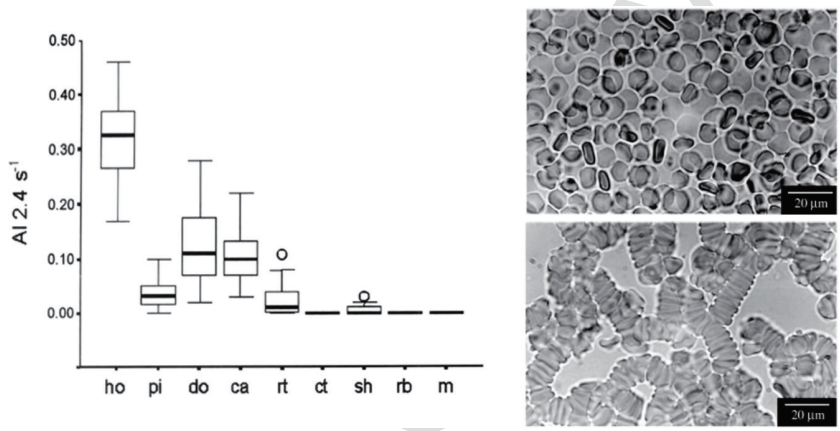
XI. táblázat: A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregométerrel mért vörösvérsejt index paraméterek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) és a LoRRca készülékkel meghatározott aggregatiós paraméterek (amp, AI, $t_{1/2}$ [s]) nőstény C57BL/b inbred egerekben (n=16, 20,8±1,3 g), CD outbred patkányokban (n=15, 287,5±14,9 g), beagle kutyákban (n=15, 11,3±1,7 kg) és Hungahib sertésekben (n=23, 17,8±2,4 kg). (Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Pető K, Mikó I, Németh N, J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2015;99:1074–1083.)

Paraméter	egér	patkány	kutya	sertés
M 5s	3,19 ± 1,72 $^{*\,\#}$	1,41 ± 0,71 $^{+\,\#}$	3,47 ± 1,85 $^{\#}$	2,66 ± 1,15
M1 5s	2,67 ± 1,45 $^{*\,+\,\#}$	2,13 ± 0,87 $^{+\,\#}$	6,64 ± 2,1	6,29 ± 2,73
M 10s	7,89 ± 4,21 $^{*\,+\,\#}$	3,64 ± 1,79 $^{+\,\#}$	10,82 ± 5,9 $^{\#}$	9,57 ± 3,14
M1 10s	6,55 ± 3,44 $^{+\,\#}$	5,51 ± 2,25 $^{+\,\#}$	15,95 ± 5,93	16,77 ± 4
amp [au]	8,67 ± 2,86 $^{+\,\#}$	7,04 ± 2,72 $^{+\,\#}$	23,51 ± 3,54 $^{\#}$	19,22 ± 3,27
AI [%]	11,63 ± 5,16 $^{*\,+\,\#}$	69,92 ± 11,64 $^{+\,\#}$	46,28 ± 9,71 $^{\#}$	63,66 ± 6,58
$t_{1/2}$ [s]	34,89 ± 8,47 $^{\#\#}$	0,4 ± 0,29 $^{\#\#}$	5,1 ± 1,99 $^{\#\#}$	2,17 ± 0,76 $^{\#\#}$

átlag± S.D., *p<0,05 vs. patkány; $^{+}$p<0,05 vs. kutya; $^{\#}$p<0,05 vs. sertés; $^{\#\#}$p<0,05 vs. mindegyik

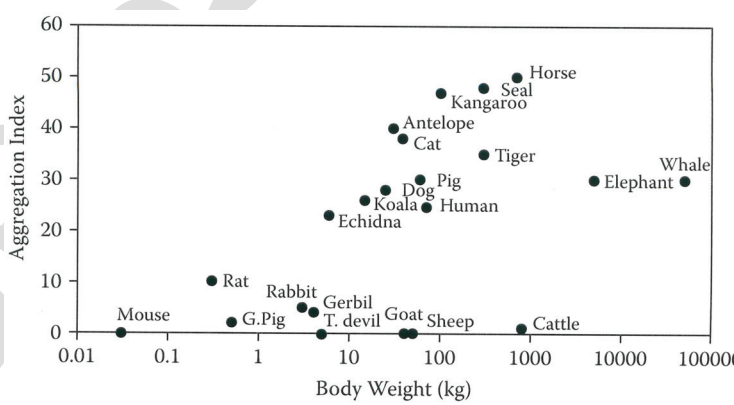
DUPLA

Jelenleg nincs olyan egységes teória, amely meggyőzően magyarázná ezeket a színes különbségeket. Különböző tanulmányok elemzik a filogenetikai sajátságokat, a környezeti faktorokat, a testtömeg és testméret sajátságokat *(38. ábra),* a vörösvérsejtszám és sejt volumen értékeket *(31. ábra, XII. táblázat),* fibrinogén koncentrációt *(XII. táblázat)* és a fibrinogén kötődés faji diverzitását, az életmódbeli (atletikus vagy szedentárius jellegű életmódot folytató faj) és táplálkozási jellegzetességeket (növényevő, mindenevő, vagy húsevő). A faji különbözőségek hátterében szerepet játszhatnak további tényezők, mint a vasculatura geometriája, az áramlástani viszonyok, a sebesség-gradiens eloszlás, az axiális migratio mértéke.



37. ábra

Bal oldali ábra: Ló, sertés, kutya, macska, patkány, szarvasmarha, juh, nyúl és egér aggregatiós index értékei. (Windberger és mtsai, Exp. Physiol. 2003;88:431-440.)
Jobb oldali ábra: szarvasmarha alig vagy nem aggregálódó, és sertés aggregálódó vörösvérsejtjei. (Cardoso és mtsai, Mat. Res. 2007;10:31-36.)



38. ábra: Különböző állatfajok testtömeg és aggregatiós index értékeinek eloszlása (Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, CRC Press, Boca Raton, 2012.)

DUNA Egyetemi Kiadó

XII. táblázat: Különböző fajok vörösvérsejt aggregatiójának intenzitása, fibrinogén koncentráció és az erythrocyták átlagos corpuscularis volumenje (MCV) átlagértékei. (Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, CRC Press, Boca Raton, 2012.)

Faj	Vörösvérsejt aggregatio intezitása	Fibrinogén koncentráció [g/l]	MCV [fl]
ló	magas	1,55	45
kenguru	magas	2,20	75
macska	magas	1,86	40
sertés	közepes	1,72	54
kutya	közepes	1,82	61
ember	közepes	2,65	90
patkány	alacsony	2,33	47
nyúl	alacsony	2,86	62
szarvasmarha	nincs	3,09	52
juh	nincs	2,82	34
egér	nincs	2,83	45

Ezek a komparatív vizsgálatok a humán haemorheologiai pathologiás eltérések jobb megértését is szolgálhatják (pl. vörösvérsejt morphologiai eltérések kapcsán) amellett, hogy a kísérletes orvostudomány számára nyújtanak összehasonlító adatokat.

9.1.2. Nemi különbségek

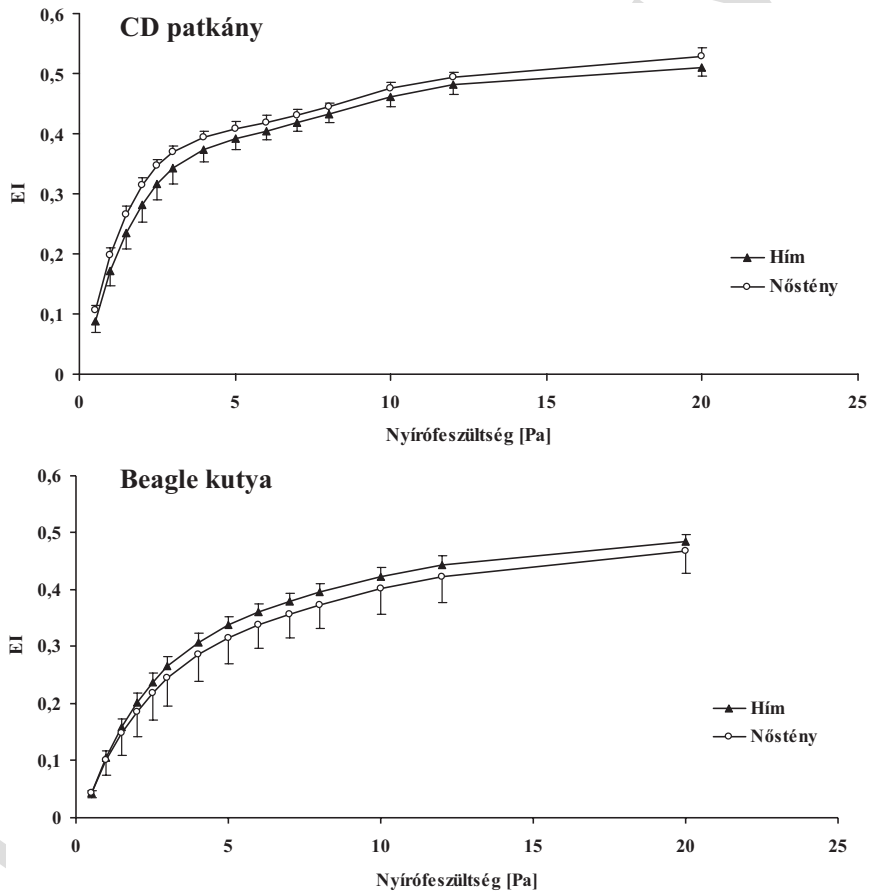
A klinikumban az utóbbi években egyre több irodalmi adat érhető el a nemi különbségek haemorheologiai jellemzőiről. Férfiaknak magasabb a vér és a plazma viszkozitása, a haematocritja és a fibrinogén koncentrációja a nőkéhez képest, akiknek vörösvérsejt deformálhatósága nagyobb, aggregatiós készsége kisebb mértékű. Ez egészségeseknél nem jelenthet „jobb" vagy „rosszabb" összehasonlítást, hiszen a teljes keringési rendszer felépítése, a hemodinamikai sajátságok, a metabolikus tényezők sok más élettani folyamat mellett összefüggésben vannak a rheologiai faktorokkal. Ugyanakkor a cardio-cerebro-vascularis betegségek rizikófaktorainak tekintetében haemorheologiai nemi és életkorbeli különbségek mutatkoznak. A klinikai vizsgálatok tervezésénél, de az experimentális orvostudományban a kísérleti csoportok nemi összetételének meghatározásánál is ezt a kérdést figyelembe kell venni. Állatkísérletes vonatkozásban alig ismert ezirányú adat.

A rheologiai szempontból fontos haematologiai paraméterek közül a fehérvérsejtszám patkányok (CD outbred) esetén szignifikáns nemi különbséget mutat,

DUPress egyetemi jegyzetek

a hímeknél magasabb értékekkel, míg például beagle kutyáknál nincs nyilvánvaló nemi különbség. A thrombocyta szám mindkét vizsgált állatfajban a nőstény állatokban mutatkozik magasabbnak. A vörösvérsejtszám mindkét fajnál a hímeknél nagyobb, emelkedett haematocrit értékek mellett. Az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom szignifikánsan nagyobb mindkét faj nőstény állataiban.

A teljes vér viszkozitás 90 s^{-1} sebesség-gradiensnél mért értékei patkányokban a nőstényeknél magasabbak. Beagle kutyák esetén a hímek mutathatnak kismértékben magasabb értékeket. A plazma viszkozitás a nőstény patkányokban szignifikánsan magasabb a hímekhez képest, magasabb fibrinogén koncentráció mellett.

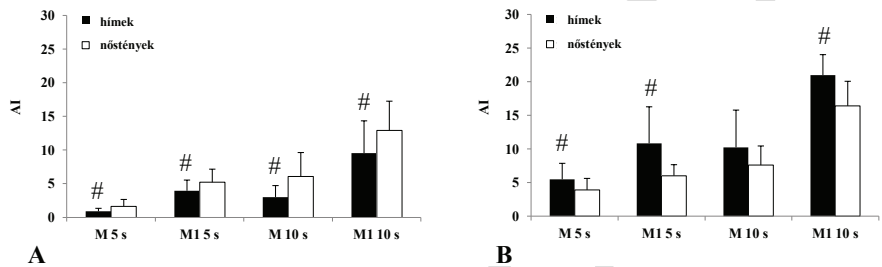


39. ábra: Az elongatiós index (EI) értékek a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében hím és nőstény CD patkányokban (A) és beagle kutyákban (B).átlag ± S.D.;
patkány: 15 hím, 18 nőstény; kutya: 24 hím, 22 nőstény
(Németh N, Kiss F, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2010;45:263-272.)

DUNA vízek

A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriás méréseinél a kezdeti relatív filtrációs sebesség (IRFR) és a relatív sejt-tranzitidő (RCTT) értékei mindkét faj hím és nőstény egyedeiben közel esnek egymáshoz. Az ektacytometriás módszerrel meghatározott elongatiós index (EI) – nyírófeszültség görbék azonban szembetűnő különbséget mutatnak. Míg patkányoknál a nőstényekben mutatkozik magasabb EI érték, kutyáknál ez a hím egyedekben figyelhető meg *(39. ábra)*.

A vörösvérsejt aggregatio tekintetében a helyzet fordított: patkányoknál a nőstényekben mérhető magasabb aggregatiós index érték, míg beagle kutyáknál a hímekben magasabb a szám. A nemi különbségek beagle kutyák 10 secundumos M index értékei kivételével szignifikánsak voltak *(40. ábra)*.



40. ábra: Hím és nőstény CD patkányok (A) és beagle kutyák (B) vörösvérsejt aggregatiós index (AI) értékei. Átlag ± S.D., # p<0,05 vs. nőstény
(Németh N, Kiss F, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2010;45:263-272.)

A laboratóriumi állatfajok nemi haemorheologiai különbségei tehát jelentősek lehetnek, a humán adatokkal nem minden szempontból korrelálnak. A kísérletek tervezésekor és az adatok értékelésekor mindezek figyelembe vétele fontos, hiszen a talált nemi haemorheologiai különbségek megközelíthetik, vagy akár el is fedhetik az adott kísérletekben vizsgált változások valódi mértékét.

A micro-rheologiai faktorok nemi különbségeire utaló adatok felvetik a kérdést, hogy a nemi hormonszint-változások, így a művi gonadectomia (ovariectomia, orchidectomia) okozhat-e további eltéréseket, s mennyiben egyenlítődnek ki a nemek között talált rheologiai különbségek. A nemi hormonok, elsősorban az oestrogen ischaemia-reperfusióval szembeni védő hatását számos tanulmány támasztja alá. Ezt a hatást a testosteron vonatkozásában is kimutatták már. A gonádok fiziológiás (pl. menopausa) vagy patológiás hormonális funkcióváltozása összetett hatást gyakorol számos élettani paraméterre, haematologiai változókra (pl. fehérvérsejt- és thrombocyta szám), vér coagulatiós paraméterekre, az endothel-funkciókra, a komplex neuroendrocrin és immunrendszerre.

DUPlass e-változat

A trauma, lézió vagy leggyakrabban tumorok miatt végzett sebészi orchidectomia és ovariectomia következtében kialakult hormonális eltérések illetve hormon-szubsztitúció tekintetében is kevésbé ismertek a haemorheologiai változások. Kísérleti eredmények szerint gonadectomia hatására a micro-rheologiai paraméterek eltérő mértékben változnak hím és nőstény patkányokban. Kimutatásra került, hogy az oestrogen szint csökkenése nagyobb arányú romlást okozott a vörösvérsejt aggregatióban és deformabilitásban, mint a testosteron szint csökkenése.

9.2. Módszertani szempontok, standardok

9.2.1. A vérvétel helye (arterio-venosus, porto-cavalis különbségek)

Klinikai vizsgálatok igazolták a macro-rheologiai paraméterek arterio-venosus különbségeit vascularis kórképekben, a micro-rheologiai változókról azonban kevés adat ismert. Az állatkísérletes modellekben gyakran van szükség különböző anatómiai lokalizációjú erekből történő vérvételekre a lokális és szisztémás rheologiai változások vizsgálataihoz, többek között ischaemia-reperfusio során, amikor a kirekesztett régióban pangó vérben olyan metabolikus változások jöhetnek létre, amelyek reperfusiókor az egész szervezetre kifejthetik hatásukat. Számos módszertani tanulmány utal arra, hogy a vér oxigenizáltsága befolyásolhatja a vizsgált haemorheologiai paramétereket, amely így fontos méréstechnikai standardizációs szempont.

Sprague-Dawley patkányokon végzett kísérletben kerültek elemzésre a micro-rheologiai paraméterek aorto-porto-cavalis különbségei. A *XIII. táblázat* mutatja be a laktát koncentráció, vérgáz adatok, a haematologiai, vörösvérsejt deformabilitási és aggregatiós paraméterek aorto-porto-cavalis különbségeit. A 41. ábra az ektacytometriás mérések adatait mutatja be.

A legmagasabb EI érték a szisztémás vénás vérmintákban, a legalacsonyabbak az artériás vérmintákban mutatkoznak, míg a portalis vénás értékek a kettő közé esnek. A portalis vénás vérmintákban kismértékben torzuló osmoscan görbék lehetnek.

Az artériás vérben az 5. másodpercben mért vörösvérsejt aggregatiós index M paraméterei bizonyultak a legalacsonyabbnak a szisztémás vénás és a portalis vénás vérmintákhoz képest. Az 5 másodperces M1 paraméter az artériás vérmintákban volt magasabb, mint a szisztémás vérmintában. A legmagasabb M1 értékeket a portalis vénás vérmintákban találták. A vena cava caudalisból vett mintában lehet a legalacsonyabb M 10 s index. Az M1 10 s érték az artériás vérmintákban

DUPress előnyzetek

XIII. táblázat: Sprague-Dawley patkányok aorta abdominalis-ából, a vena cava caudalis-ából és a vena portae-jéből származó vérminták laktát, vérgáz, haematologiai, vörösvérsejt deformabilitási, ozmotikus gradiens ektacytometriás és aggregatiós paraméterei (Klárik Z, Kiss F, Mikó I, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2013;53:217-229.)

Paraméter	Aorta abdominalis	Vena cava caudalis	Vena portae
laktát koncentráció [mmol/l]	2 ± 0,42 *	1,3 ± 0,24	1,57 ± 0,39
pH	7,39 ± 0,03 * #	7,33 ± 0,03	7,32 ± 0,05
pO_2 [mmHg]	87,7 ± 10,32 * #	41,5 ± 10,86	39,5 ± 7,98
pCO_2 [mmHg]	33,01 ± 7,63 *	44,67 ± 10,87	42,26 ± 10,45
fehérvérsejtszám [$x10^3$/µl]	4,43 ± 1,54 * #	5,94 ± 1,67	5,86 ± 1,34
vörösvérsejtszám [$x10^6$/µl]	6,98 ± 0,42	7,21 ± 0,4	7,23 ± 0,39
Hgb [g/dl]	11,71 ± 0,58	12,06 ± 0,52	12,04 ± 0,63
Hct [%]	44,46 ± 2,2	45,38 ± 2,15	44,74 ± 1,96
MCV [fl]	63,76 ± 2,27	62,99 ± 1,73	61,91 ± 2,04
thrombocyta szám [$x10^3$/µl]	735,2 ± 46,5	742,4 ± 76,1	747,8 ± 75,1
EI 3 Pa-nál	0,331 ± 0,034 *#	0,351 ± 0,014	0,346 ± 0,032
EI_{max}	0,546 ± 0,038 *	0,575 ± 0,022	0,557 ± 0,043
$SS_{1/2}$ [Pa]	2,07 ± 0,37 *	1,95 ± 0,31	1,93 ± 0,23
M 5 s	1,15 ± 0,46	1,26 ± 0,52	1,21 ± 0,58
M1 10 s	4,38 ± 2,51 *	2,27 ± 0,83 #	4,71 ± 1,98
M 5 s	2,03 ± 0,88	1,87 ± 0,85	2,95 ± 2,0
M1 10 s	5,27 ± 3,13	5,03 ± 2,24	6,18 ± 4,24

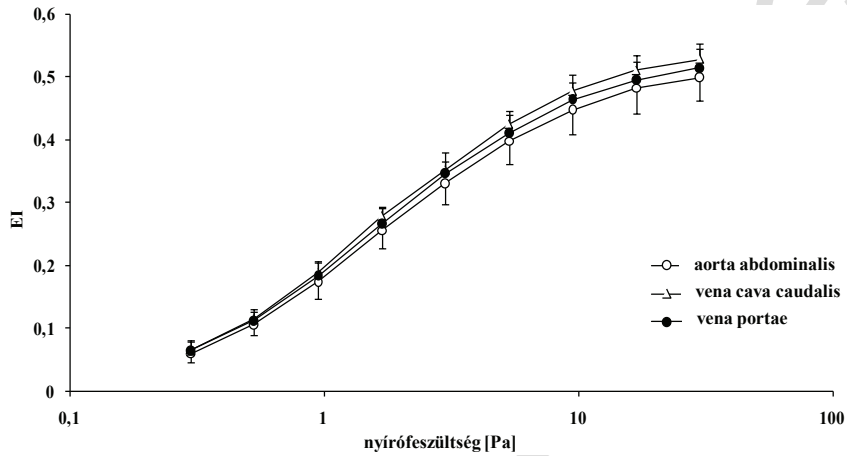
átlag ± S.D., n=13, * $p<0,05$ vs. v. cava caudalis, # $p<0,05$ vs. v.portae
EI 3 Pa-nál = elongatiós index 3 Pa nyírófeszültségnél; EI_{max} = kalkulált maximális elongatiós index; $SS_{1/2}$ = a maximális elongatiós index feléhez tartozó nyírófeszültség

mérsékelten magasabb a szisztémás vénás értékekhez képest, míg a legnagyobb érték a portalis vénás mintákban mérhető.

Son és munkatársai (2010) szintén azt találták, hogy patkányban az elongatiós index értékek alacsonyabbak az artériás vérmintákban a vénáshoz képest. Ezt a különbséget nem figyelték meg ember és kutya vérminták esetében. Simmonds és munkatársai (2011) emberben a vénás vérnél magasabb aggregatiós index értékeket mértek fülcimpából vagy ujj-begyből vett capillaris vérmintákban.

DUPress e-lényzetek

Ezek az adatok alátámasztják a mintavételi lokalizáció pontos megtervezésének fontosságát az adatok összehasonlíthatósága szempontjából. Ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy a micro-rheologiai arterio-venosus különbségek kimutathatósága nagymértékben függ az alkalmazott mérőmódszer érzékenységétől is.



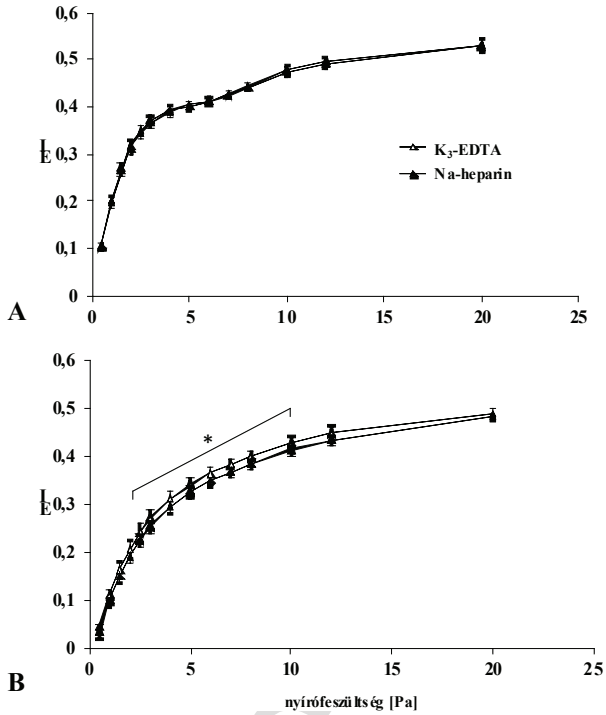
41. ábra: A vörösvérsejt elongatiós index (EI) értékek a nyírófeszültség függvényében, Sprague-Dawley patkányok aorta abdominalis-ából, vena cava caudalis-ából és vena portae-jéből nyert vérmintákban. Átlag ± S.D., n=13
(Klárik Z, Kiss F, Mikó I, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2013;53:217-229.)

9.2.2. Anticoagulánsok hatása

Az általánosan javasolt anticoagulans szer a legtöbb haemorheologiai vizsgálathoz (vörösvérsejt deformabilitás, vörösvérsejt aggregatio meghatározás különböző módszerei) az etilén-diamin-tetraacetilsav kálium sója (K_3-EDTA, 1,5–1,8 mg/ml). Azonban erek kanülálásakor, intravascularis beavatkozásoknál, ér-anastomosisok készítésekor az állatkísérletekben is szükséges lehet a heparin nátrium-sójának lokális vagy szisztémás alkalmazása. Így ezekben a kísérletes modellekben a heparin is elfogadott és szükséges anticoagulans a haemorheologiai vizsgálatokhoz.

Kimutatásra került, hogy amíg patkányoknál az elongatiós index (EI) – nyírófeszültség görbe identikus a Na-heparinos és a K_3-EDTA-s vérmintákban, addig például beagle kutyáknál a heparinos vérminta EI értékei 2,5 és 10 Pa nyírófeszültség tartományban szignifikánsan alacsonyabbak voltak a K_3-EDTA-s vérmintáknál *(42. ábra).*

DUPress ebook



42. ábra: CD patkányok (A) és beagle kutyák (B) K_3-EDTA-val vagy Na-heparinnal anticoagulált vérmintáinak vörösvérsejt elongatiós index (EI) adatai a nyírófeszültség függvényében átlag ± S.D., n=5-5, *p<0,05 vs. Na-heparin

(Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2009;43:257-259.)

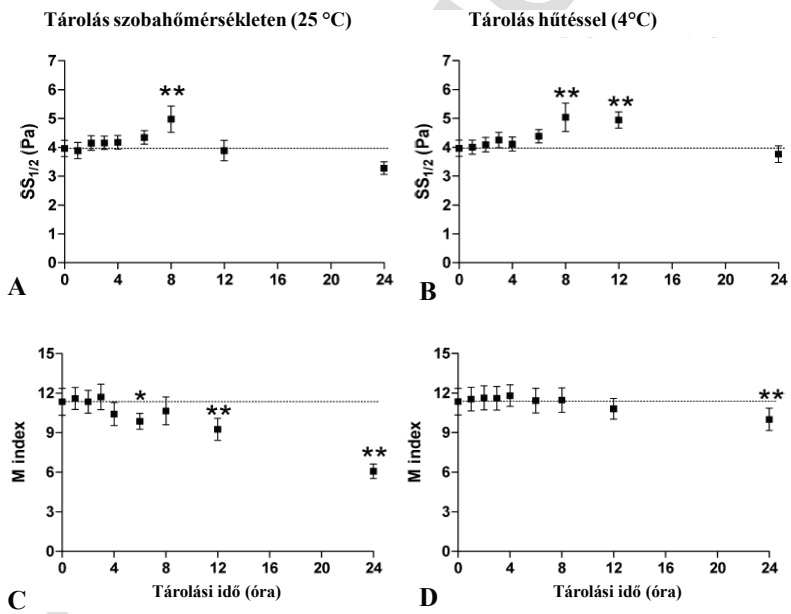
Ezek az adatok a különböző anticoaguláns szereket tartalmazó vérminták haemorheologiai összehasonlíthatóságának nehézségeire, lehetséges faji különbségeire, a megfelelő mintavételi protokoll megtervezésére és az adekvát kontroll vizsgálatokra hívhatják fel a figyelmet.

9.2.3. Mintatárolás, mintakezelés

Számos alkalommal merül fel a vérvétel és az elvégzett laboratóriumi mérések között eltelt idő, az *in vitro* tárolás („*in vitro* aging") befolyásoló hatásának problémája. Ez nemcsak a mindennapi analitikai munka során fontos kérdés, hanem a vérminták egyes laboratóriumok közötti transzportja szempontjából is (akár másik országba/államba). Ilyenkor nemcsak az idő, hanem a hőmérséklet és annak állandósága is alapvető fontosságú a későbbi megbízható mérések szempontjából. A vörösvérsejtek tárolása során metabolikus depléció, megzavart ion homeostasis

(lassuló majd leálló ion pumpák), protein és lipid módosulások (oxidáció, degradáció, keresztkötések) jönnek létre, amelyek a sejtvolumen, így a felszín-térfogat arány, az intracellularis haemoglobin koncentráció változása, továbbá a protein és lipid módosulások miatt a membrán viszkoelasztikus tulajdonságaiban bekövetkező változások módosíthatják a vörösvérsejtek deformabilitását. A haemorheologiai paraméterek kapcsán metodika-függő klinikai laboratóriumi adatok már elérhetőek, humán vérminták vizsgálatára ajánlások ismertek.

Egészséges férfi önkéntestől származó vérmintákon kimutatásra került, hogy a vörösvérsejt deformabilitást jellemző $SS_{1/2}$ értékek 6 órán keresztül stabilak voltak mind szobahőmérsékleten (25±2 °C), mind hűtőben (4±2 °C) való tárolás során. Nyolc órás tárolásnál az értékek szignifikánsan megemelkedtek, ezzel párhuzamosan a maximális elongatiós index (EI_{max}) értékek jelentősen csökkentek. Ezt követően az $SS_{1/2}$ az EI_{max} értékekkel együtt csökkent. A hűtés a folyamatot kismértékben lassította. A vörösvérsejt agggregatio M indexe a 4. órát követően a tárolási idővel csökkent, amelyet a hűtés jelentősen lassított *(43. ábra)*.



43. ábra: Humán vérmintákban a maximális elongatiós index értékek feléhez tartozó nyírófeszültség ($SS_{1/2}$ [Pa]) (A,B) és a vörösvérsejt aggregatiós M index (C,D) értékek változása a tárolási idő függvényében szobahőmérsékleten vagy hűtéssel való tárolás mellett.

átlag ± S.E., n=10, *p<0,05, ** p<0,01 vs. alapértékek (0. óra)
(Uyuklu M, Cengiz M, Ulker P, Hevér T, Tripette J, Connes P, Németh N, Meiselman HJ, Baskurt OK, Clin Hemorheol Microcirc 2009;41:269-278.)

DUF tiszteletpéldány

Megállapítható, hogy humán vérminták ektacytometriás deformabilitás értékei 6 órán, a fénytranszmissziós elvű aggregatiós mérések szobahőmérsékleten 4 órán belül stabilak. Az aggregatiós mérések ideje hűtéssel mintegy 12 óráig prolongálható, deformabilitás méréseknél 6 órán túl már romlásra kell számítani.

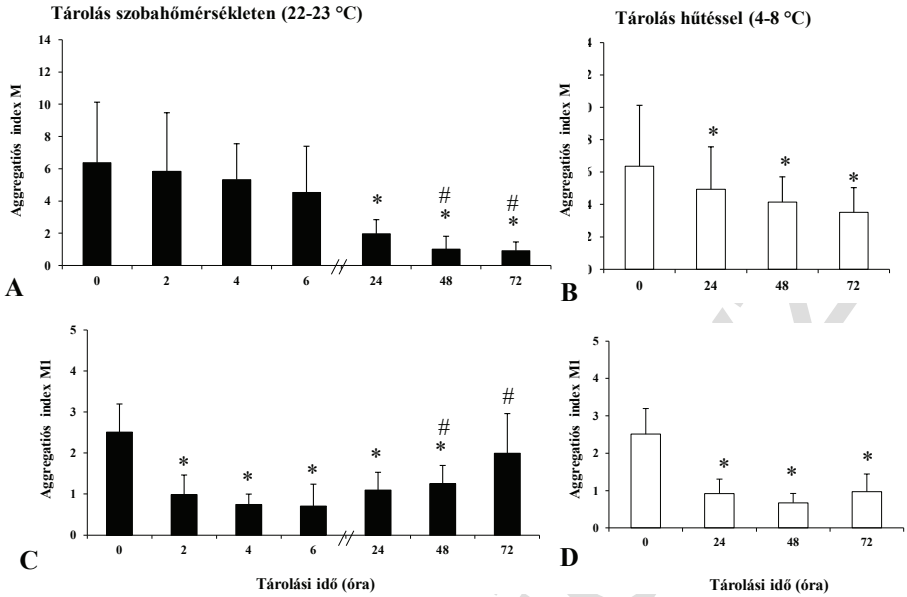
Állatkísérletes vonatkozásban azonban a különböző fajok vérmintáinak érzékenységéről e téren is alig ismertek adatok egyes haematologiai paraméterek kivételével. Egy erre irányuló tanulmányban kimutatásra került, hogy CD outbred patkányokban és beagle kutyákban a haematologiai paraméterek közül a vörösvérsejt átlagos térfogat értékek az első 6 órán belül egyik faj vérmintájában sem mutattak jelentős változást szobahőmérsékleten való tárolás esetén. Huszonnégy óra elteltével már mindkét faj esetén jelentősen nőtt az MCV értéke, legnagyobb mértékben patkányoknál (közel 25%-os növekedés). Hűtéssel történt tárolásnál az MCV növekedése mindkét állatfajnál kiküszöbölhető volt a vizsgált 72 óra alatt.

Patkány vérminták vörösvérsejt deformabilitás értékekben a szobahőmérsékleten való tárolás során az első 6 órában változás nem volt tapasztalható. Ezt követően jelentős és folyamatos elongatiós index csökkenés mutatkozott, 24 óra elteltével a 10-20 Pa közötti nyírófeszültség tartományban volt jelentős romlás. Hűtéssel ez a romlás kivédhető volt.

Beagle kutyák vérmintáiban a tárolási idő függvényében fokozatos vörösvérsejt aggregatiós index (M 5 s, M1 5 s) csökkenést tapasztaltunk (két óránként 6-8%-os csökkenés), amely 24 óra elteltével is folytatódott. A hűtés lassította, de nem akadályozta a folyamatot (44. ábra, A,B). Patkány vérminták aggregatiós index értékeiben (M 5 s, M1 5 s) már 2 óra elteltével 40-60%-os csökkenését észleltük, amely csökkenés tovább folytatódott 6 óra elteltével is. Meglepő módon 24 óra tárolás után az aggregatiós index értékek növekedni kezdtek, megközelítve, majd elérve a kiindulási értékeket. A 4-8 °C-on történő tárolással az aggregatiós index értékek mindvégig alacsonyabbak maradtak az alapértékekhez képest (44. ábra, C,D).

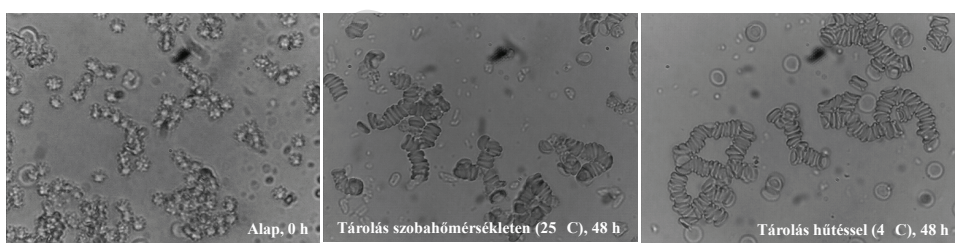
A paradox jelenség hátterében a nehezen aggregálódó echinocyta sejtalakok nagymennyiségű képződése állhat, ami jellemző a környezeti hatásokra igen érzékeny patkány vörösvérsejtekre. Az idő előrehaladásával és a sejtek duzzadásával e formák száma kevesebb lett. A discocyta, stomatocyta és a sphero-stomatocyta alakok már könnyebben aggregalódnak, paradox módon így „normalizálva" az aggregatiós index értékeket *(45. ábra).*

DUPlessz E-jegyzetek



44. ábra: Beagle kutyák (A,B) és CD outbred patkányok (C,D) szobahőmérsékleten vagy hűtéssel tárolt vérmintáinak M 5 s (A,B) és M1 5 s (C,D) aggregatiós index értékei a tárolási idő függvényében.

átlag ± S.D., n=5, *p<0,05 vs. alapértékek (0. óra), # p<0,05 vs. hűtés
(Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Kiss F, Uyuklu M, Hevér T, Sajtos E, Kenyeres P, Tóth K, Furka I, Mikó I, Korea-Aust Rheol J 2009;21:127–133. alapján)



45. ábra: CD patkány vérmintájának közvetlenül vérvétel utáni (A), és szobahőmérsékleten (B) vagy hűtéssel (C) tárolt 48 órás tárolást követő mikroszkópos képe. Eredeti nagyítás: 200x

A laboratóriumi mérésekhez való mintaelőkészítés során a centrifugálás (különböző hőmérséklet, idő és *g* erő kombinációiban) a mindennapok része. Haemorheologiai méréseknél a különböző vörösvérsejt-autológ plazma és vörösvérsejt-puffer szuszpenziók készítéséhez elengedhetetlen a minták többszöri centrifugálása, a sejtek „mosása” különböző pufferekben. A centifugálás során jelentős mechani-

kus stress érheti a sejteket. A vörösvérsejtek potenciális károsodása nagyban függ az alkalmazott mechanikus stressz nagyságától és időtartamától. A centrifugálás során a vörösvérsejtek víztartalma csökkenhet, amely az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció emelkedéséhez, így deformabilitás romláshoz és a nyírófeszültséggel szembeni kisebb tűrőképességhez vezet. A mechanikus károsodásban a centrifugálás során fontos tényező a sejtekre ható nyomás is (tubusfal-sejt és sejt-sejt közötti relációban). Maga a plazma, a plazmaproteinek fontos szerepet játszanak a vörösvérsejtek mechanikus stresszel szembeni ellenállóképességük tekintetében, a haemolysis ellen való védelemben.

Kimutatásra került, hogy a centrifugálás (500 *g*, 1000 *g* vagy 1500 *g* mellett 10 percig, 15 °C-on) a kutya vérmintákban okozott kismértékben sejtduzzadást (az MCV 2-5%-kal nőtt). Jellemző változás volt mindegyik faj valamennyi centrifugált vérmintáiban, hogy az MCHC kismértékben növekedett, legnagyobb mértékben a humán vérmintákban (4–12%). Az elongatiós index – nyírófeszültség görbéket tekintve kimutatható deformabilitás változás nem mutatkozott.

A membránstabilitási teszt eredményeként a mechanikus stressz alkalmazása után a humán vérminták kivételével egyik fajnál sem mutatkozott jelentős differencia. Az emberi mintákban a magasabb *g* erő mellett végzett centrifugálás hatására a membránstabilitási teszt során alkalmazott mechanikus stressz hatására már kevésbé romlott a deformabilitás.

A vörösvérsejt aggregatiós index értékek változásai voltak a leginkább szembetűnőek. A patkány vérminták valamennyi index értéke az alkalmazott *g* erő növelésével csökkent. Az 1500 *g*-vel végzett centrifugálásnál ez a csökkenés 50%-nál nagyobb mérékű volt. A kutya vérmintákban hasonló irányú, de jóval kisebb csökkenés mutatkozott, leginkább a 5. másodperces index értékekben. A sertés vörösvérsejtek aggregatiós index értékei növekedtek a centrifugálás hatására, már az 500 *g* erőt alkalmazó beállításnál is. M-módban, azaz stasisnál végzett méréseknél az alapmintákhoz képest közel kétszeresére nőttek az index értékek valamennyi centrifugált mintában. M1-módban, azaz 3 s^{-1} sebesség-gradiensnél végzett aggregatiós méréseknél ez a növekedés kisebb mértékben ugyan, de megfigyelhető volt. A legstabilabbnak a humán vérminták bizonyultak: a centrifugálás hatására egyik index paraméter sem mutatott számottevő változást.

9.2.4. Mérőmódszerek speciális vonatkozásai

A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriával való meghatározása a klinikai haemorheologiai laboratóriumokban is széles körben ismert módszer, amelynek magyar (pécsi és debreceni) vonatkozásai is vannak. A vizsgálatokhoz szükséges mennyiségű, a standard előírások szerinti 5%-os haematocritú vörösvérsejt

DUPLA egyetemi jegyzetek

szuszpenzió előállításához 2-2,5 ml vér vétele szükséges. Állatkísérletes vonatkozásban – főleg a laboratóriumi kisállat modelleken– ez a vérmennyiség komoly problémát jelent. A szuszpenzió Htc-jának 5%-ról 1%-ra csökkentése lehetővé teszi rágcsálókon is utánkövetéses vizsgálatok kivitelezését, alkalmanként 0,5 ml vér vételével. Azonban a módszer magában rejti annak veszélyét, hogy a különböző haematocritú szuszpenziók adatai között jelentős különbségek adódhatnak. Fontos szempont emellett az adott állatfaj vörösvérsejtjeinek alakja, mérete és az alkalmazott filterek pórusátmérője (sejtméret-pórusméret arány), amelyek befolyásolhatják a mérések érzékenységét. Kísérletes adatok alapján megállapítható, hogy a jól összehasonlítható mérésekhez 3 μm pórusátmérőjű filter esetén egérben, patkányban, keverék- és beagle kutyában csak 3-5% haematocritú, 5 μm pórusátmérőjű filter esetén egérben és patkányban 1-5% haematocritú, keverék- és beagle kutyában 3-5% haematocritú vörösvérsejt szuszpenzió használata ajánlott.

Ahhoz, hogy a vörösvérsejtek elongálódni tudjanak az ektacytometriás méréseknél, nyíróerőnek kell őket kitenni, ami a vérplazmához képest magas viszkozitású makromolekula (PVP vagy dextrán-70) oldatban valósul meg. Ez a szuszpendáló közeg adja át a nyíróerőt a vörösvérsejt membránnak. Ha a viszkozitás alacsony, akkor erő hatására a sejtek elnyúlás nélkül, pörgő mozgást végeznek a mintában, jelentősen megváltoztatva a mérések szenzitivitását is. A kereskedelmi forgalomban is elérhető (készen megrendelhető) vagy elkészíthető PVP oldatok viszkozitása humán vonatkozásban akár nagymértékben is befolyásolhatja a vörösvérsejt deformabilitási méréseket.

9.3. Experimentalis haemorheologiai elvek összegzése

Az előzőekből jól érzékelhető, hogy a haemorheologiai kutatások során számos szempontot kell figyelembe venni az eredmények értékelésénél, amelyet a *XIV. táblázat* foglal össze. A kísérleti/laboratóriumi állat élettani jellegzetességei, az alkalmazott anaesthesia és gyógyszerek hatásai, a beavatkozások, a vérvételek, a mintakezelés és mérési módszertan, valamint az utánkövetéses időszak körülményei, mind befolyásoló tényezőként szerepelnek. Ismeretük és számbavételük az eredmények értékeléséhez és összehasonlíthatóságához, extrapolációjához elengedhetetlenek.

DUPress egyetemi jegyzetek

XIV. táblázat. Megfontolások és tényezők, amelyek a haemorheologiai eredményeket befolyásolják kísérletek során.

Kísérleti/laboratóriumi állat	Anaesthesia, gyógyszerek
– faji jellegzetességek – tenyésztési törzs, genetikai háttér – nem – oestrus ciklus – kor – szállítási és tartási körülmények (beleértve a mikrobiológiai státuszt is) – táplálás – komfort faktorok – fertőzések, betegségek	– premedicatio – altatás, érzéstelenítés formája, alkalmazott anaestheticum (típus, dózis) – lélegeztetés – testhőmérséklet fenntartása – intraoperativ volumen korrekció – anticoagulans – kontraszt anyagok

Beavatkozás	Vérvétel és mérések	Követéses időszak
– érkanülálások – intravascularis eszközök – intubatio/tracheostomia – a műtét típusa és annak komplexitása	– mintavételi hely – anticoagulans – mintatérfogat – ismételhetőség – mintakezelés (tárolás, *in vitro* „ageing”, hőmérséklet, centrifugálás beállításai, Htc korrekció, pufferek) – módszerspecifikus tényezők	– postoperativ analgesia – antibiotikumok – sebkezelés – autophagia megelőzése – tartási körülmények – táplálás – postoperativ volumen korrekció

DUPress – jegyzetek

DUPress e-jegyzetek

10. Haemorheologiai változások pathophysiologiai folyamatokban, betegségekben

Ha korábbi fejezetekből felidézzük a haemorheologiai faktorokat és azok meghatározó tényezőit, érthető, hogy a macro- és micro-rheologiai paraméterek érzékenyen változnak számos pathophysiologiai folyamatban: szabadgyökök okozta károsodások során, gyulladásos folyamatokban, anyagcsere betegségekben, különböző haematologiai, cardio- és cerebrovascularis kórképekben, sepsis-ben, valamint a lépfunkció csökkenése vagy elvesztése következtében. A vérsejtek számának, morphologiai tulajdonságainak változása, a plazma összetételének eltérései, komplex módon változtatják meg a vér rheologiai tulajdonságait.

A kövekezőkben a fejezet szűk keretei miatt csak röviden kerülnek ismertetésre kórképek, betegségek, amelyekben haemorheologiai változásokat írtak le.

10.1. Haematologiai betegségek

A haematologiai betegségekben nagy általánosságban három csoportba sorolhatóak a rheologiai változások:

1. A vérsejtek számának növekedése révén
2. Plazma proteinek és a vörösvérsejt aggregatio változása által
3. Micro-rheologiai faktorok megváltozása következményeként

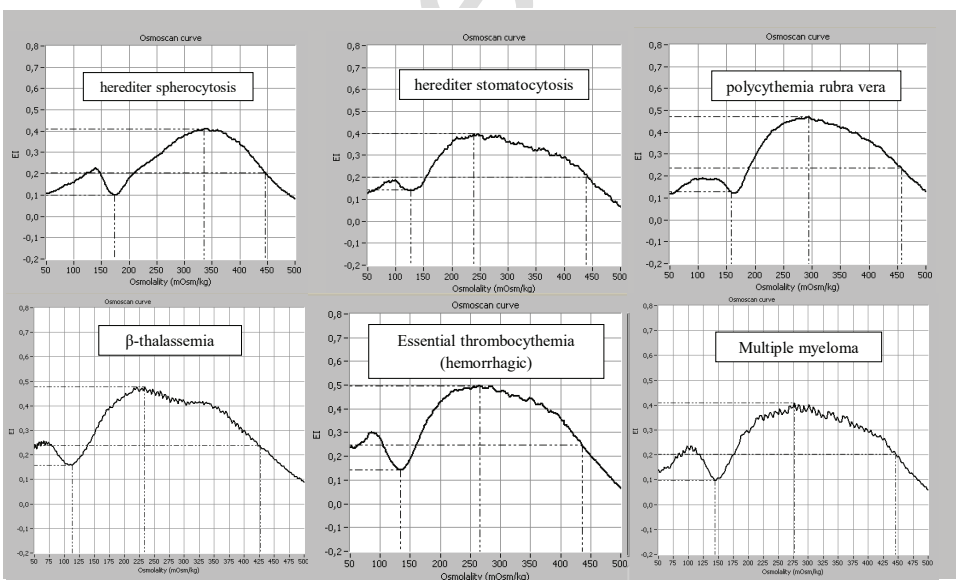
A vérsejtek számának növekedése révén bekövetkező viszkozitás növekedés figyelhető meg erythrocytosisban (polycytaemia rubra vera, abszolút-, relatív-, szekunder polyglobulia), leukocytosis, thrombocytosis során (leukaemiák, lymphomák különböző formáiban, myeloproliferativ kórképekben). A változások a microcirculatio szintjét is érintik. Nemcsak a fehérvérsejtek magas száma lehet hatással a teljes vér viszkozitásra, hanem a dezintegrálódott fehérvérsejtekből a kikerülő nukleinsavak is emelik a plazma viszkozitást.

A plazma protein összetétele nemcsak akut fázis reakciókban (főként az emelkedett fibrinogén koncentráció révén), hanem számos betegség következtében is megváltozhat olyan mértékben, amely már a plazma viszkozitás emelkedését és/

Dunaújváros e-jegyzetek

vagy a vörösvérsejt aggregatio fokozódását eredményezi. Külön megemlítendő itt a paraproteinek jelenléte macroglobulinaemiák esetben (fertőzéses betegségekben, parazita infekciókban, ismeretlen etiológiájú hypergammaglobulinaemiával), Waldenström-macroglobulinaemia, myeloma multiplex, plasmocytoma vagy cryoglobulinaemia során.

A micro-rheologiai paraméterek (vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio) megváltozása által is emelkedhet a vér viszkozitás és szenvedhet zavart a szöveti perfusio. A vörösvérsejtek volumenében bekövetkező változások a felület/térfogat arány eltérései miatt okoznak csökkent deformabilitást macro- és microcytaer anaemiákban. Haematologiai betegség eredetű deformabilitás romlás következhet be az erythrocyták belső viszkozitásának növekedése révén (sarlósejtes anaemia, más haemoglobinopathiák, mint pl. HbC, α-thalassaemia), a membrán morphologiai eltérések miatt (spherocytosis hereditaria, ellipto-ovalocytosis hereditaria, enzymopathiák, haemolyticus anaemiák, immunhaemolyticus anaemiák). megemlítendőek még a secunder membránbetegségek, mint az acanthocytosis és a Zieve-szindróma. A vörösvérsejt aggregatio fokozottabb ß-thalassaemiában, amikor nemcsak az aggregatio intenzitása nagyobb, de a képződő aggregatumok mérete, sejtszáma is jelentősen meghaladja a normál értékeket.



46. ábra: Különböző haematologiai betegségek reprezentatív osmoscan görbéi (tanszéki mérések alapján)

Dunaújvárosi e-jegyzetek

Az ozmotikus gradiens ekacytometriás (osmoscan) mérések során kapott görbe csökkent membrán flexibilitás illetve emelkedett denzitás hatására torzulhat, a görbe alatti terület csökkenhet, illetve csúcspontja is eltolódhat. Különböző haematologiai betegségekben jellegzetes változásokat lehet megfigyelni, különösképpen spherocytosis hereditaria esetén, amikor a görbe jelentősen zsugorodik. Más haematologiai betegségekben is igen heterogén megjelenésű lehet az osmoscan görbe *(46. ábra)*.

A hyperviscositás szindrómák formái a Wells klasszifikáció (1970) szerint az alábbiak:

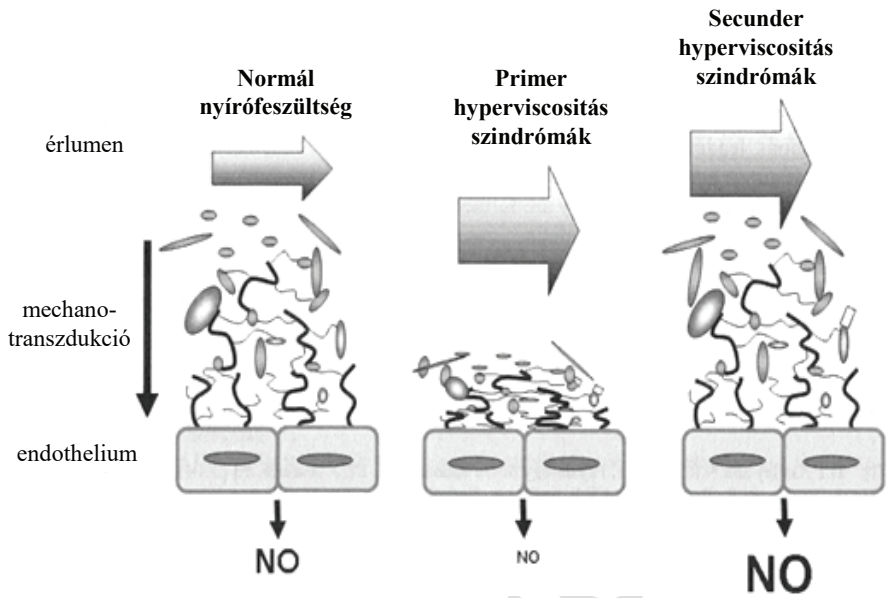
1. Polycythaemiás forma: a keringő vérsejtek számbeli növekedése
2. Sclerocythaemiás forma: normál számban meglévő, de romlott deformabilitású vérsejtek, csökkent fluiditás.
3. Megnövekedett szérum/plazma viszkozitással kísért formák: norrmál számban és normál deformabilitással bíró vérsejtek, a plasma proteinek koncentráció-emelkedésével, vagy paraproteinek jelenlétével.

Az előzőekben tulajdonképpen ezeket tárgyaltuk. Modern szemléletben primaer és secunder hyperviscositás szindrómákról beszélhetünk:

1. Primaer hyperviscositás szindrómák: polycythaemiák (primaer vagy secundaer), acut és chronicus leukemiák, reaktív leukocytosis, thrombocytosis, thrombocytaemiák.
2. Secundaer hyperviscositás szindrómák: lokális elváltozások által indukált, főként ischaemiás károsodások révén

A kettő között az az alapvető különbség, hogy primaer hyperviscositás szindrómában egy adott, meglévő betegséghez köthető az elváltozás, amely permanensen fennáll, így a folyamatosan magasabb viszkozitás az endothel mechanoszenzitiv válaszadó képességét érzéketlenebbé teszi. Secunder hyperviscositás esetén azonban egy fokozott válaszadó készséget lehet látni *(47. ábra)*.

DUPress ejegyzetek



47. ábra: A primaer és secunder hyperviscositás szindrómák közti különbség szemléltetése az endothelium egyik mechanoszenzitív válaszadó készségén (NO felszabadulás) keresztül.

(Baskurt O.K., Hardeman M.R., Rampling M.W., Meiselman H.J., IOS Press, 2007)

10.2. Anyagcsere betegségek

Diabetes mellitusban kimutatták, hogy a normál állapothoz képest magasabb a teljes vér- és plazma viszkozitás, romlott a vörösvérsejt deformabilitás, fokozott a vörösvérsejt aggregatio, a leukocytákat érintő eltérések mellett. A rheologiai romlás összefüggésben áll a betegségben kialakuló macro- és microangiopathiával is. A vörösvérsejtek felszínén bekövetkező változások az erythrocyta-endothelium adhaesiót is befolyásolják, fokozzák azt. Cukorbetegekben a vörösvérsejtek band-3 proteinje részben glykált (AGE), ami kötődik az endothelsejtek felszínén lévő ún. advanced glycation end pruducts-hoz (RAGE). A kötődés szöveti faktor (TF) termelést, intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) és vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expresszió fokozódást, IL-6, vascular endothelial growth factor (VEGF) és macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1) felszabadulást indukál.

Anyagcsere betegségek haemorheologiai változásaira példaként említhető, hogy lipoproteinaemiákban döntően a plazma viszkozitás emelkedése, uraemiában el-

DUPress e

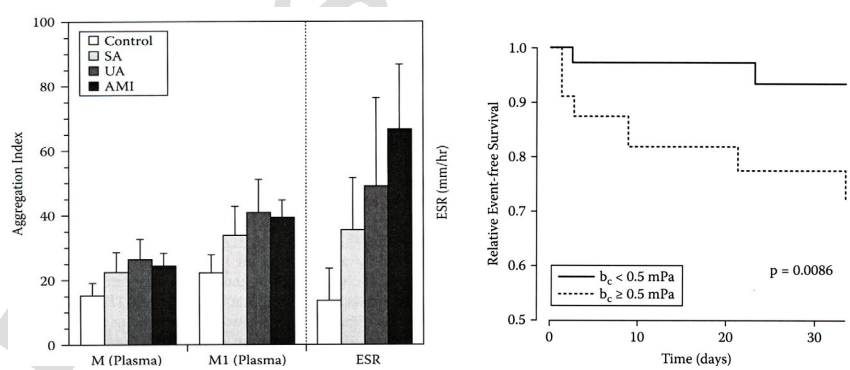
sősorban a metabolikus változások, Gaucher-kórban fokozott aggregatio miatt alakul ki rheologiai eltérés.

10.3. Cardio- és cerebrovascularis kórképek

Az elmúlt évtizedekben számos multicentrikus tanulmány (Puerto Rico Study, Northwick Park Study, Caerphilly/Speedwell Study, Edinburgh Artery Study, MONICA project) igazolta, hogy a kóros haemorheologiai faktorok cardio- és cerebrovascularis betegségek rizikótényezői. A megváltozott rheologiájú vér hatással van az endothelfunkciókra, az érbetegségek következtében kialakuló állapot hatással van a rheologiai paraméterekre („chicken versus egg", „marker or maker"?).

Cardio-cerebro-vascularis kórképek haemorheologiai profiljára általában jellemző, hogy magas a vér- és a plazma viszkozitás, romlott deformabilitás és fokozott aggregatio mellett.

A vörösvérsejt aggregatio változás jelentőségét támasztja alá, hogy az aggregatio fokozódás mértéke is jelentős a betegség progressziójában. Szinte graduális jellegű aggregatiós index emelkedés mutatkozik egészséges kontrollhoz képest a stabil angina – instabil angina – acut myocardialis infarctus szekvenciában. Döbbenetes adat, hogy instabil angina eseteken belül is a plazmaviszkozitáshoz viszonyított fokozottabb vörösvérsejt aggregatio és a csökkenő túlélési esély együtt járhat *(48. ábra).*



48. ábra

Bal oldali ábra: Vörösvérsejt aggregatiós index és erythrocyte sedimentatiós ráta (ESR) stabil angina (SA), instabil angina (UA) és acut myocardialis infarctus (AMI) esetén. Jobb oldali ábra: instabil anginás betegek Kaplan-Meier túlélési görbéi plazma viszkozitáshoz arányosított alacsonyabb és magasabb vörösvérsejt aggregatio esetében. (Baskurt O.K., Hardeman M.R., Rampling M.W., Meiselman H.J., IOS Press, 2007.)

Dunai Sándor Orvosi Egyetek

10.4. Daganatos kórképek

Von Tempelhoff és munkatársai (2000) kimutatták, hogy benignus emlő, petefészek és méhtumoroknál nincs jelentős haemorheologiai változás, azonban emlő carcinoma, ovarium carcinoma, endometrium és cervix carcinoma esetében szignifikánsan romlik a vér rheologiai státusza: jelentősen emelkedik a fibrinogén koncentráció és a plazma viszkozitás, fokozódik a vörösvérsejt aggregatio. A magas plazma viszkozitás értékek összefüggést mutattak a megrövidült túléléssel.

Az angiogenesis és a véráramlás paradox kapcsolata jelentkezik tumorokban, amely a perfusiót nehezíti. Az irregularis érgeometria növeli az áramlási ellenállást. A tumorok vasculaturája ugyanis dezorganizált, kanyarokkal, tágulatokkal, nehezen definiálható különbségeket mutató „arteriolákkal" és „venulákkal", shunt-ökkel, mindemellett szabálytalan az endothelium, fokozott permeabilitással, de tumorokban magasabb lehet az interstitialis nyomás is. Mindezek eredője a romló perfusio.

Malignus daganatos kórképekben a vér- és plazmaviszkozitás magasabb értékei, az emelkedett fibrinogén koncentráció, a fokozott vörösvérsejt aggregatio és a csökkent deformabilitás hatására romló microcirculatio következményei lehetnek:

- a megváltozott áramlási profil miatt a metastasisok kialakulásának facilitációja
- a romló perfusio révén akadályozódik a cytostaticumok célba érése
- paraneoplasiás változásokkal összefüggő kóros coagulatival együtt thrombosis, embolia kialakulásának esélye is növekszik

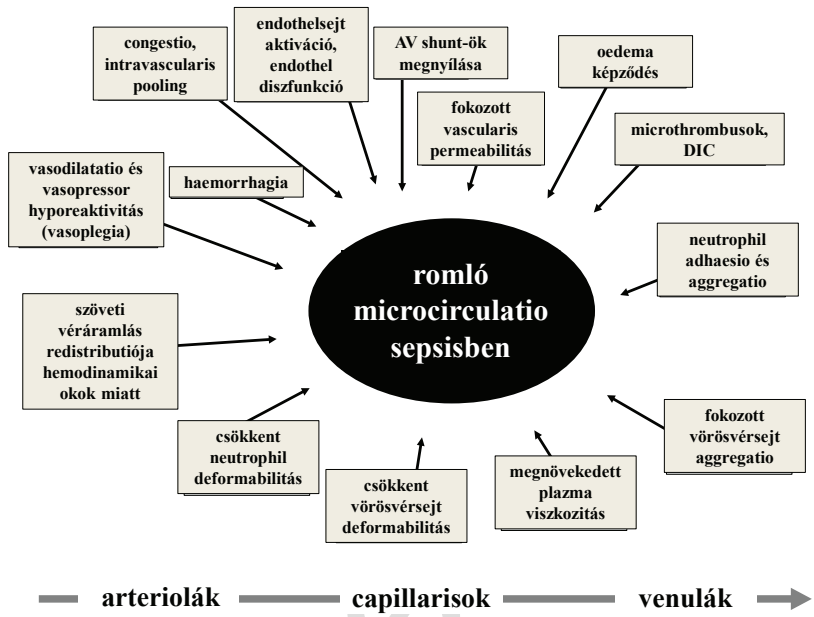
10.5. Sepsis

Az igen változatos klinikai képet mutató sepsis napjainkban is komoly problémát jelent. Évente mintegy 13 millió esetet becsülnek világszerte. A súlyos sepsis mortalitása 30-50%-ra, a septicus shock-ké 50% felettire tehető.

A septicus folyamat általános pathophysiologiája összetett. A 2016-ban bevezetett Sepsis-3 definíció szerint az alábbi fokozatok különíthetőek el: infectio, sepsis, septicus shock, többszervi elégtelenség (multiple organ failure, MOF). Kifejlődhet órák, napok alatt fulmináns módon, de lehet alattomosan, lassan kialakuló sepsis forma. A sepsis pathophysiologiájának haemorheologiát, microcirculatiót érintő

DuPress egyetemi jegyzetek

vetületéből kiemelhető, hogy számos módon romlik a vér rheologiai állapota és súlyos zavarok keletkeznek a mikrokeringés területén a folyamat előrehaladtával *(49. ábra).*



49. ábra: A microcirulatio romlásához vezető tényezők sepsisben
(Németh N, Fülesdi B, Series on Biomechanics 2016;30(1):20-26. alapján)

A precapillaris oldalon a hemodinamikai változások (vasodilatatio, vasoplegia), perfusio distributiós zavarok (arterio-venosus shunt-ök megnyílása) révén csökkenhet a capillarisok áramlása. Rigid vörösvérsejtek tömeszelhetik el a capillarisokat. A hatalmas kiterjedésű endothel felszín funkciózavara tovább csökkenti a perfusiót a leukocyták, thrombocyták, de még a vörösvérsejtek fokozott adhaesiója révén is. Microvascularis thrombosis (a disseminált intravascularis coagulatio, DIC részeként is), fokozott capillaris permeabilitás, interstitialis oedema, fokozott vörösvérsejt aggregatio járulnak még hozzá a mikrokeringés romlásához. A fulmináns sepsis korai szakaszában a kiterjedt coagulatio miatt bekövetkező consumptiós jellegű fibrinogén szint csökkenését, a kifejlődött, manifesztálódott sepsis-ben nagymértékű fibrinogén koncentráció emelkedés követi, következményes plazma viszkozitás emelkedéssel és vörösvérsejt aggregatio fokozódással. A fokozott erythrocyta aggregatio az áramló particulumok axiális migratióját erősíti, ezáltal szélesedik az érbelhártya-közeli sejtszegény Poiseuille-zóna, ami elősegíti a leukocyták marginatióját, egyúttal csökkenti a rolling ellen

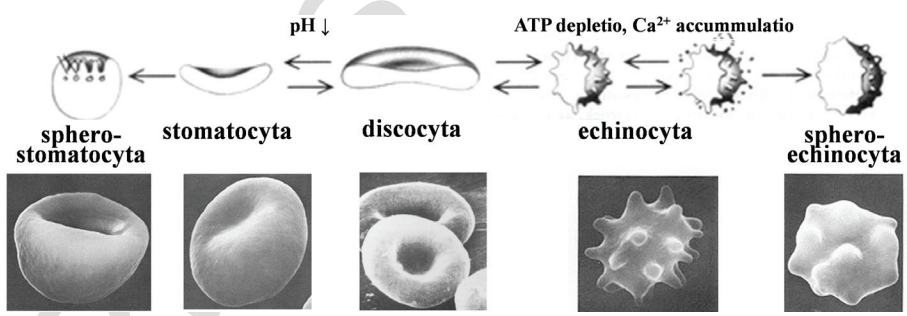
DUPress tek

ható erőket. Az endothel-sejtek és a leukocyták felszínén a septicus folyamat részeként felerősödött adhaesiós molekula és receptor expresszió révén a folyamat tovább gördül. Fontos, mikrokeringést is befolyásoló vascularis morphologiai változás a kis erek glycocalyx rétegének elvékonyodása is.

10.6. Ischaemia-reperfusio

Ischaemia-reperfusio során a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio jelentős mértékű változásokat mutathat. A romló deformabilitás és a fokozott aggregatio együttesen a vérviszkozitás jelentős emelkedéséhez és a microcirculatio területén szignifikáns mértékű áramlás-lassuláshoz, vagy adott capillarisokban perfusio zavarokhoz is vezethet. E problémakör a szükségszerű érleszorítással járó sebészeti beavatkozásoknál, illetve a szerv- és szövettranszplantáció során is nagy klinikai jelentőséggel bír.

A kérdés, hogy milyen micro-rheologiai változások jöhetnek létre ischaemia-reperfusio során, igen összetett hátterű. Az ischaemia-reperfusio pathomechanizmusa a sejt ischaemia alatt bekövetkező hypoxiás károsodástól, a reperfusio során megjelenő oxigén révén a szabadgyökös szövetkárosodástól és ezek talaján kialakuló gyulladásos válaszreakciókból („steril gyulladás"; endothel-károsodás, neutrophil-, macrophag-, complement aktiváció, citokin felszabadulás, natív immunválasz, thrombocyta aktiváció) tevődik össze.



50. ábra: A vörösvérsejtek morphologiai transzformációs (spherocyta – discocyta – echinocyta) szekvenciája és az azt előidéző fő tényezők

A folyamat során a vér rheológiai tulajdonságai több mechanizmus útján is megváltozhatnak. Az ischaemia során a kirekesztett régióban pangó vér rheologiailag lényegesen rosszabb minőségű, amely a leszorítás időtartamának megnyúlásával

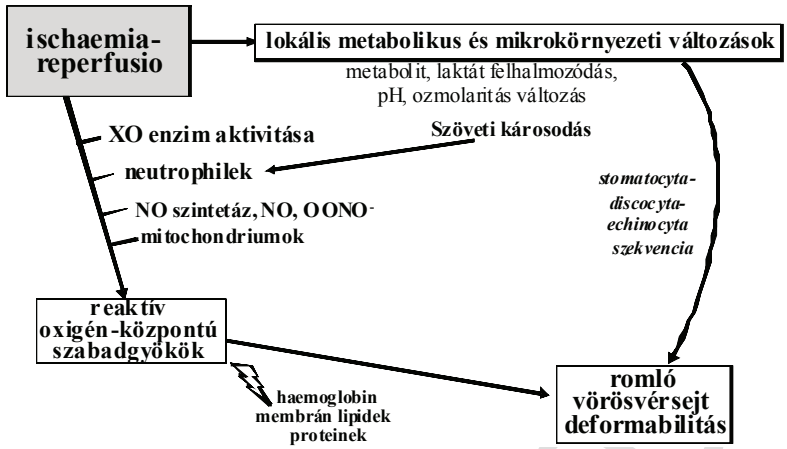
DUPLA Jegyzetek

súlyosbodik. A felengedés után a szisztémás keringésbe bekerülő metabolitok és károsodott vörösvérsejtek további változásokat okozhatnak a microcirculatio területén akár távolabbi szervekben is. Ischaemia során a keringéstől elzárt területen a pangó vér laktát koncentrációja emelkedik, a pH-ja csökken, ami a bikonkáv, discocyta alakú vörösvérsejtek kezdetben reverzibilis stomatocyta formává való átalakulásához vezet, amely később már irreverzibilissé válik (sphero-stomatocyta). Amennyiben az ATP depléció, illetve a kálcium akkumuláció a domináns, inkább echinocyta és sphero-echinocyta formák jelennek meg. Mindkét morphologiai átalakulási irány rosszabbodó micro-rheologiai tulajdonságokkal kísért: elsősorban romló deformabilitás képében *(50. ábra).*

A reperfusio során igen korán (percek alatt) nagymennyiségű oxigénközpontú szabadgyök szabadul fel. Ebben a folyamatban kulcsszereplő a sejtekben (az egyes szervek sejtjei között eltérő eloszlásban) legnagyobbrészt dehidrogenáz formában jelenlévő, majd a hypoxia alatt a Ca^{2+}-influx során aktiválódó proteolitikus enzimek hatására oxidáz formává alakuló enzim, a xantin-oxidáz (XO). A működése révén felszabaduló szuperoxid anion ($\bullet O_2^-$) igen reaktív szabadgyök, a szövetek károsodásához vezető láncreakciót indít el. A szuperoxid anion hidrogén-peroxiddá (H_2O_2) alakul a kataláz hatására. A Haber-Weiss reakció során (ennek második lépése a Fenton reakció vas anion jelenlétében) szuperoxid anionból és hidrogén-peroxidból molekuláris oxigén mellett további szabadgyökök keletkeznek: a hidroxil anion (OH^-) és a hidroxil-gyök ($\bullet OH$). A szabadgyökök aktiválják a mitogen-aktivált protein kináz (MAPK) útvonalat, oxidatív DNS károsodás előidézésével a poly(ADP-ribóz) polimeráz 1 (PARP-1) útvonalat, továbbá direkt károsítják az endothelt, amely adhaesiós molekulák (E- és P-selectin, intercellularis adhaesiós molekula 1, ICAM-1) expressziójához és így a gyulladásos válaszreakció fokozódásához vezet.

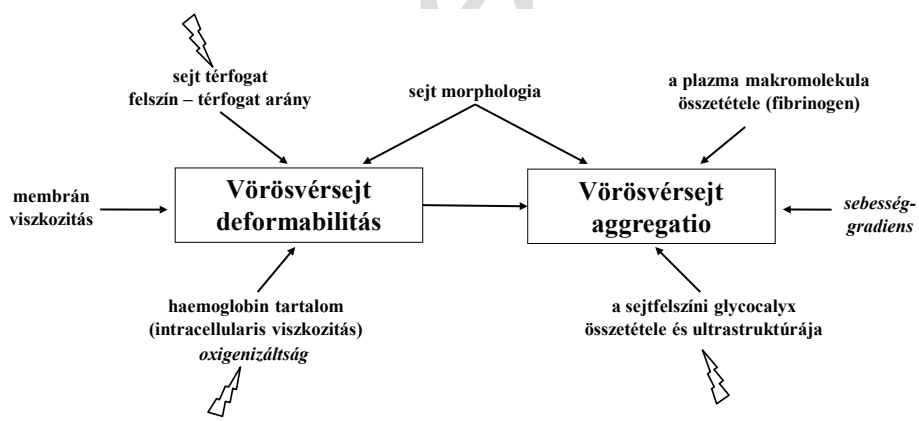
A szabadgyökök a vörösvérsejtekben is károsítják a sejtmembránt (lipidperoxidáció), szulfhidril-keresztkötések kialakulásával a transzmembrán proteineket (receptorok, ionpumpák), a haemoglobin molekulákat (methaemoglobin, Heinz-test képződés), valamint strukturális proteineket egyaránt. A vörösvérsejtek gazdagok vasban, ami a Fenton-reakció révén katalizálja a szabadgyök-reakciókat, igen érzékennyé téve e sejteket az oxidatív stresszel szemben. Szuperoxid anion és nitrogén-monoxid együttes jelenléte peroxinitrit ($ONOO^-$) képződéséhez vezet, amely igen erős károsító hatású szabadgyök az erythrocytákra nézve is. További jelentős szabadgyök-forrást jelentenek a gyulladásos folyamat során aktiválódott leukocyták. A metabolikus és a szabadgyökök okozta károsodások hatására romlik a vörösvérsejt deformabiltás *(51. ábra).*

DUPrese e-jegyzetek



51. ábra: Az ischaemia-reperfusio során bekövetkező vörösvérsejt deformabilitás romlás lehetséges folyamatai
(Németh N. és mtsai, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:215-225.)

A vér oxigenizációjában és a sav-bázis paraméterekben, a laktát koncentrációban és a pH-ban bekövetkező változások mind a vörösvérsejtek deformabilitására, mind aggregatiós készségükre kihatnak *(52. ábra)*.

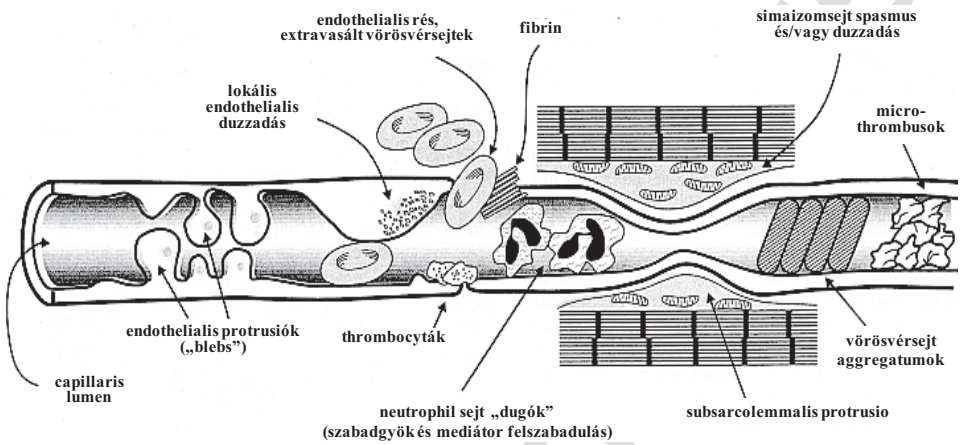


52. ábra: A micro-rheologiai paraméterek és meghatározó tényezőinek az oxigenizáltság és a sav-bázis viszonyok megváltozásával ható befolyásolási pontjai (tört nyilak)
(Németh N. és mtsai, Clin Hemorheol Microcirc 2012;51:43-50.)

A szöveti ischaemia-reperfusióra karakterisztikus lehet a „no-reflow” jelenség kialakulása, amit a reperfusiókor a nagyerekben újrainduló keringés ellenére a microcirculatio területén keringéslassulás vagy teljes keringésmegállás jellemez.

DUKA Tankönyvek

A jelenséget összetett változások okozzák: microvascularis spasmus, endothel sejtek duzzadása, capillaris permeabilitás növekedése, interstitialis oedema, microthrombusok, neutrophil leukocyták kitapadása, lokális acidózis. Mindehhez hozzájárul a romlott deformabilitású és/vagy fokozott aggregatiós készséggel bíró vörösvérsejtek jelenléte *(53. ábra)*.



53. ábra: A „no-reflow" jelenség hátterében álló tényezők sematikus összegzése (Reffelmann T., Kloner R.A.: Heart 2002;87:162–168. nyomán)

Mindemellett fontos változások köthetőek az akut fázis reakciókhoz is, amelyek érintik a plazmaproteineket (fibrinogén, α_2-macroglobulin, immun-globulin szint növekedés, albumin szint csökkenés), a fehérvérsejteket (számuk emelkedése), a vérlemezkéket (számuk csökkenése vagy növekedése), valamint a vörösvérsejteket egyaránt (haemoconcentratio, micro-rheologiai változások).

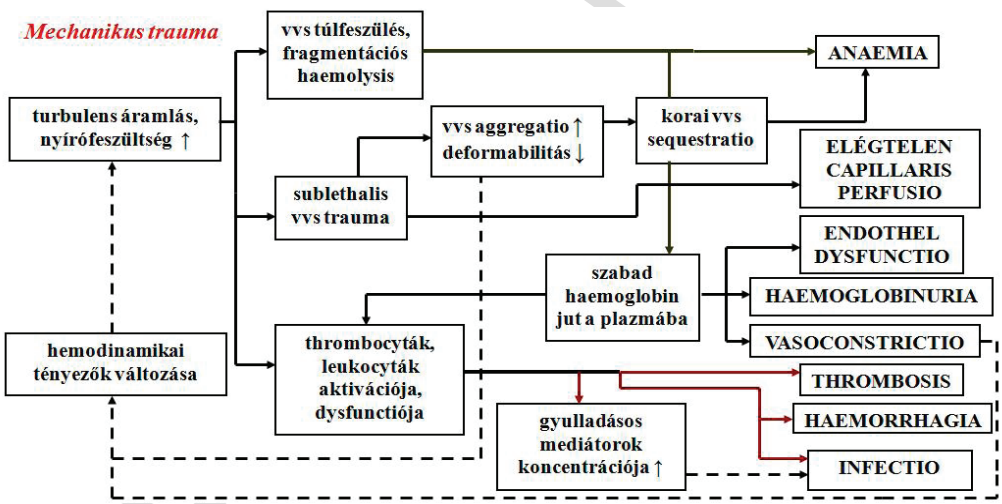
A deformabilitás kérdéskörén belül külön vizsgálható a vörösvérsejtek membránstabilitása (vagy mechanikus stabilitása), amely kifejezi, hogy a sejtekre ható erők milyen hatással vannak a deformabilitás változására. A vörösvérsejtek a keringésben eltöltött életük során állandó mechanikai hatásnak vannak kitéve a hemodinamikai erők, az igen széles tartományban változó nyírófeszültség és sebesség-gradiens viszonyok által. Az extracorporalis keringés, a haemodialysis, a beültetett ér-graftok/protézisek, műbillentyűk a haemocompatibilitási fokuk ellenére mechanikus stresszt okoznak, amely jelentősen eltér a fiziológiás körülményektől. A kérdés itt az extrafiziológiás mechanikus stressz mértéke, a tolerálhatóság határa. A megnövekedett nyírófeszültség, a kavitáció, a sejtek rigid falhoz való ütközése, a semi-turbulenssé (ritkán turbulenssé) váló áramlás, azok mértékétől függően egymásra kölcsönösen ható folyamatokat indít be *(54. ábra)*.

DUPress-ek

A mechanikus stressz mértékétől (nagyság, expozíciós idő) függően haemolysis, leukocyta és thrombocyta aktiváció, a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenése és aggregatiójának növekedése, a sejtek sublethalis traumája következhet be. Sublethalis trauma során a sejtek haemolysise még nem következik be, de a micro-rheologiai paraméterek romlása már kimutatható, ami a stressz nagyságától függően lerövidíti a vörösvérsejt élettartamát.

Maga a mechanikus stressz Ca^{2+}/PKC szignál mechanizmuson keresztül befolyásolja a vörösvérsejtek deformabilitását membránproteinek foszforlilációján keresztül (pl. band-3, protein 4.1). Az intracellularis Ca^{2+} koncentráció növekedése aktiválja a (Ca^{2+}-Mg^{2+})-ATPázt, befolyással van a sejt metabolizmusra, K^+ és víz kiáramláshoz vezet (Gárdos-effektus). A sejtvolumenben így bekövetkező változás rontja a deformabilitást.

Kisebb mértékű mechanikus stressz (kb 5 Pa-ig) a vörösvérsejtek microrheologiai paramétereiben javulást is okozhat a felszabaduló nitrogén-monoxid (NO) deformabilitást javító hatása miatt. A nyírófeszültség hatására NO szintetizálódik az endothelsejtekben, valamint magukban az erythrocytákban is.



54. ábra: Mechanikus trauma hatására bekövetkező vörösvérsejt károsodáshoz vezető folyamatok és következmények
(Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, 2007)

A vörösvérsejt aggregatio leginkább a postcapillaris venulák területén jön létre az ott uralkodó nyomás- és sebesség-gradiens viszonyok miatt. Gyulladásos kórfolyamatokban, sepsisben, szabadgyökök okozta hatásokra az aggregatio jelentősen fokozott mértékű lehet és az arteriás oldalon is megjelenhet. A fokozott

DJRI Idézzétek

vörösvérsejt aggregatio következményei magukba foglalják a tömeges áramlási szakaszban a particulum-méret növekedését, amely a vérviszkozitás emelkedéshez vezet, jellemzően az alacsonyabb sebesség-gradiens tartományokban. A mikrokeringés területén nagyobb energiára van szükség a disaggregatio létrejöttéhez, az arteriolákban a kifejezettebb axiális áramlás révén csökken az érfal mentén a súrlódási ellenállás, valamint csökkenhet a szöveti haematocrit, növekedhet a vascularis tónus. Mindezek eredője az áramlási ellenállás növekedése.

A bármilyen okból megváltozott rheologiájú vér a viszkozitás-változás révén hatással van az endothel felszínén létrejövő nyírófeszültség-profil kialakítására is és ezáltal számos mechanotransducer-mediálta endothel funkció eltéréséhez vezet (vascularis tónus, prothromboticus, adhaesiós, proliferációs mechanizmusok).

A témakörnek még számos tisztázatlan pathophysiologiai, diagnosztikai, prognosztikai és terápiás kérdései vannak, amelyek tisztázására megfelelő kísérletes modellek szükségesek. Ezekben a modellekben fontos kérdéskör az időfaktor -azaz az ischaemia időtartama- és a reverzibilis-irreverzibilis változások meghatározása. További tisztázandó kérdéskör a lokális és szisztémás rheologiai változások megismerése és megértése, a korai postoperativ időszak (főleg az 1-3. nap) történései, valamint a változások dinamikájának elemzése a prevenciós és terápiás lehetőségek felderítésével.

Tanszéki, szöveti/szervi ischaemia-reperfusióra irányuló kutatásaink *(XV. táblázat)* fő eredményeinek eredőjeként elmondható, hogy a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékben romlik ischaemia-reperfusio során, kezdetben mehcanikai, szabadgyök okozta és metabolikus hatások, majd azt követően az 1- 3. postoperativ napokon a kialakuló gyulladásos folyamatok eredőjeként. A károsító hatások részlegesen kivédhetőek antioxidáns szerek alkalmazásával, valamint ischaemiás pre- és postconditionálással, beleértve a távoli szervi ischaemiás preconditionálást is. Az időfaktor (az ischaemia időtartama) és a hőmérséklet meghatározó tényezők a változások mértékének tekintetében. A nem kontrollált hűtés haemorheologiai szempontból nem előnyös. A lokális és szisztémás micro-rheologiai változások kevéssé ismertek, s főként a szöveti károsodás és a mikrokeringési zavarok összefüggéseiben további vizsgálatok szükségesek.

DUPRESS elegyzetek

XV. táblázat: Tanszéki ischaemia-reperfusiós kutatásaink főbb eredményei, megállapításai

Szerv/régió	Faj	Ischaemia időtartama	Főbb eredmények, megfigyelések
Hátsó végtag	patkány	60 perc	A vörösvérsejt deformabilitás 1-2. postoperativ napra bekövetkező szignifikáns mértékű romlása kivédhető allopurinolos előkezeléssel.
	patkány	60 perc	A vörösvérsejt deformabilitás romlása nemi különbségeket mutat a korai postoperativ napok során, amelyet az előzetes gonadectomia módosít, kifejezettebb postischaemiás változásokat előidézve.
	patkány	60 perc	A postischaemiás microcirculatiós romlás kimutatására kidolgozott laser Doppler-es teszttel a korai változások intraoperativan vizsgálhatóak.
	patkány	120 perc	A csökkenő pH és lokális haemoconcentratio a reperfusio első órájában arterio-venosus különbségeket mutathat.
	kutya	180 perc	Szignifikánsan romló vörösvérsejt deformabilitás mutatható ki a 2-3. p.o. napokon. Haemoconcentratio az 1. napra, emelkedő fibrinogén koncentráció és plazma viszkozitás az 1-5. napon jelentkezik. A haemorheologiai és haemostaseologiai változások lokális hűtés alkalmazása mellett kifejezettebbek.
Vese	kutya	45 perc	A reperfusio első 30 percében mutatkozó vörösvérsejt deformabilitás rosszabbodás nem, de az 1-2. postoperativ napra jelentkező romlás allopurinol prae-ischaemiás adásával kivédhető.
	patkány		A reperfusio első 120 percében mutatkozó vörösvérsejt deformabilitás romlás és aggregatio fokozódás, valamint a kialakuló szövettani eltérések részlegesen mérsékelhetőek távoli szervi ischaemiás precondititonálással (egyik végtag leszorítása, háromszor ismételt 10–10 perces ischaemia és reperfusio ciklusok), ha az a manifest ischaemia előtt 1, de hatékonyabban 24 órával történik.
Máj	kutya	3×15 perc	Pringle (Báron) manőver során a lokális haematocrit, a vörösvérsejt aggregatio és leukocyta szám jelentősen nő a portalis vérmintákban a leszorítás háromszori ismétlése után.
	patkány	60 perc, partialis	Vörösvérsejt deformabilitás romlás és aggregatio fokozódás részlegesen mérsékelhető távoli szervi ischaemiás precondititonálással (egyik végtag leszorítása, háromszor ismételt 10–10 perces ischaemia és reperfusio ciklusok), ha az a manifest ischaemia előtt 1 órával történik.

Duplon Könyvek

Szerv/régió	Faj	Ischaemia időtartama	Főbb eredmények, megfigyelések
Vékonybél	kutya	30 perc	A vörösvérsejt deformabilitás a 3. postoperativ napra rosszabbodott.
	patkány	30 perc	A portalis és cavalis vénás vérmintákban romlott vörösvérsejt deformabilitás volt kimutatható a reperfusio első 30 percében. A vörösvérsejt aggregatio a portalis mintákban fokozottabb volt. Az ischaemiás postconditionálás kismértékben javította a rheologiai állapotot.
	patkány	30 perc	A micro-rheologiai romlás nemi és életkor-függő eltéréseket mutat: a vörösvérsejt deformabilitás romlás az idősebb hímekben, az erythrocyta aggregatio fokozódás a nőstényekben volt nagyobb mértékű ischaemia-reperfusiót követően.
Musculus latissimus dorsi lebeny	kutya	60 perc	A kontroll oldali izomlebennyel összehasonlítva a lokális haematocrit a reperfusio első órájában fokozatosan nőtt a lebeny vénájában (v. thoracodorsalis), míg a vörösvérsejt aggregatio fokozódás a reperfusio első 15 percében volt kifejezettebb.
Adipocutan lebeny	patkány	60 perc	A vörösvérsejt deformabilitás romlása a 3-7. postoperativ napokon volt kifejezett, a vörösvérsejt aggregatio fokozódása az 1-3. napon mutatkozott. A lebeny különböző területén a mikrokeringés intezitása változó volt, legnagyobb mértékű romlás az 1-7. postoperativ napokon látszott.
Testis	patkány	30 perc	A vörösvérsejt deformabilitás kismértékben romlott, az aggregatio azonban jelentős mértékben fokozódott az 1. postoperativ napra.
Supra- vagy infrarenalis aorta abdominalis leszorítás érintett szervei	patkány	60 perc	A vörösvérsejt deformabilitás romlás bár jól kimutatható volt a reperfusio első órájában, a metabolikus (laktát koncentráció emelkedés és a pH csökkenés) és keringésdinamikai változások a micro-rheologiainál nagyobb mértékűek voltak.

Duplicate Diagnosis

10.7. Haemorheologiai eltérések és a haemostasis kapcsolata

A thrombusképződést elősegítő tényezőkből álló, tágabban értelmezett Virchow-triász magában foglalja a hypercoagulabilitást, a hemodinamikai változásokat (stasis, turbulencia) és az endothel sérülést, dysfunctiót. Ebből érthető, hogy a lassuló, szabálytalanná váló véráramlás elősegíti a vérrögképződést. Számos klinikai tanulmány igazolja, hogy mélyvénás thrombosis eseteiben magasabb a fibrinogén koncentráció és a plazma viszkozitás, gyakori a fokozott aggregatio.

Az 1970-es években került felismerésre, hogy keringésben fellépő mechanikus stressz, így a rheologiai paraméterek által is determinált nyíróerők hatással vannak a thrombocyta aktivációra. A nyírófeszültség a kialakult thrombus biomechanikáját is befolyásolja (stiffness, elastikus modulus). A folyamatban számos mechanoszenzitív elem azonosítható.

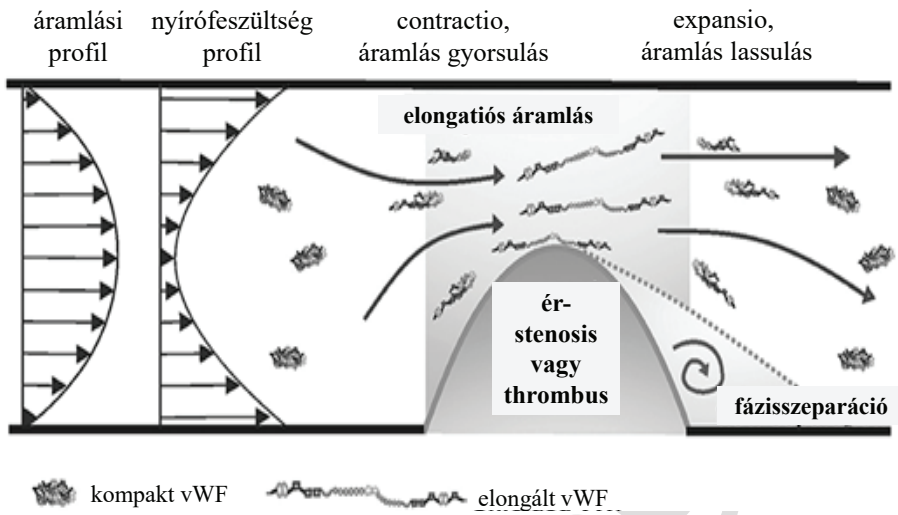
In vitro a thrombocyta aggregatio hozzávetőlegesen 80 dyn/cm^2 (8 Pa) nyírófeszültség felett indul meg. Fiziológiásan alacsonyabb sebesség-gradiensnél (600-900 s^{-1}) a thrombocyta aggregatio dominánsan $\alpha_{IIb}\beta_3$-dependens interakciókon alapul, míg 1000–10000 s^{-1} sebesség-gradiens tartományban a GPIbα és a $\alpha_{IIb}\beta_3$ játszik főszerepet. Ennél magasabb tartományban a vWF-dependens interakciók dominálnak.

A von Willebrand faktor (vWF) nyíróerő-indukált konformáció változása fontos szerepet játszik a thrombocyta aktivációban. Az erő növelésével a vWF multimerek kibontódnak, elongálódnak (már 3000-5000 s^{-1} sebesség-gradiens felett), így több A1 domain tud kötődni a thrombocytákon lévő GPIb receptorokhoz *(55. ábra)*. Ez a vWF-GPIb interakció Ca^{2+} influxot, thrombocyta aggregatiót eredményez, potencírozva a vWF GPIIb-IIIa komplexhez való kötődésével.

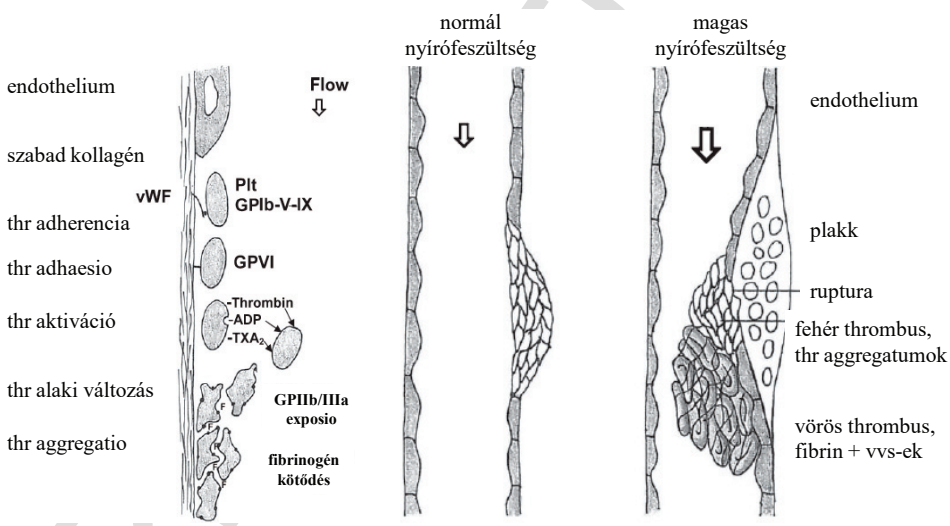
A vérlemezkék felszínén számos mechanoszenzítiv integrin található, amelyek triggerelik a thrombocyta aggregatiót, aktivációt és cytoskeletalis reorganizációt. Egyik ilyen integrin az $\alpha_{IIb}\beta_3$ komplex. Cytoskeletális regulatórikus elemek disszociációja, mint az α-actinin leválása a β_3 végről, nyírófeszültség növelés hatására megtörténik. További mechanoszenzítív receptorok, proteinek: maga a GPIb, P2Y receptor, adhesion-and deregulation-promoting adapter protein (ADAP). A magas nyírófeszültség fokozza a P-szelektin expressziót, GPIIb/IIIa activációt és thrombocyta microparticulumok (PMPs) generálását, a GPIba, GPVI és GPIIb/IIIa receptorok kifejeződését, ezáltal a thrombocyta aggregatio és adhaesio folyamatát *(XVI. táblázat)*.

Rheologiai szempontból fontos megemlíteni azt is, hogy a Poiseuille-zóna ad lehetőséget a vérlemezkék érfal felé való sodródására *(56. ábra)*

Duplex e-jegyzetek



55. ábra: A von Willebrand faktor (vWF) nyíróerők hatására bekövetkező konformációváltozása
(Rana A. és mtsai, Front. Cardiovasc. Med. 2019;6:141. nyomán)



56. ábra: A rheologiai, hemodinamikai tényezők és a thrombocyta-funkció kapcsolata
(Reinhart W.H. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:71-79.)

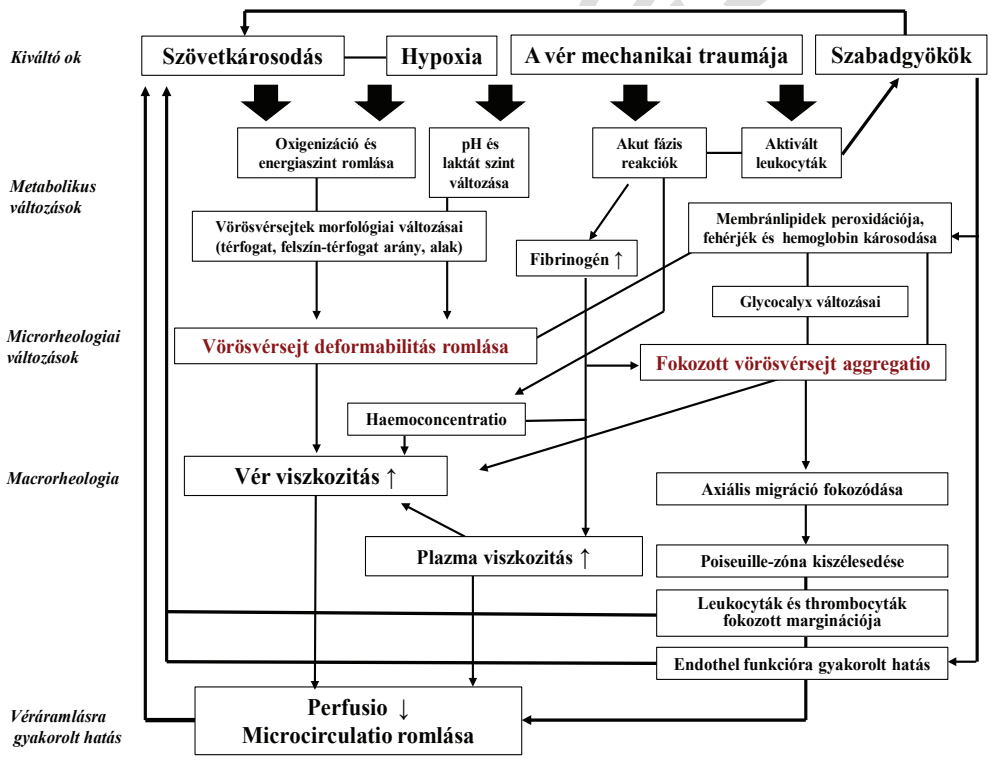
DUPLA PDF

XVI. táblázat. Áramlás-mediált thrombocyta aggregatio és a nyíróerők kapcsolata (Viallat A., Abkarian M., CRC Press, Boca Raton, 2020 alapján)

Sebesség-gradiens tartomány	Domináns mechanizmusok
alacsony és közepes ($<10^3\ s^{-1}$)	fibrinogén és $\alpha_{IIb}\beta_3$
magas ($10^3 - 10^4\ s^{-1}$)	jellemzően vWF-dependens, GPIbα, $\alpha_{IIb}\beta_3$
igen magas ($>10^4\ s^{-1}$)	vWF-GPIbα, membrán deformáció

10.8. Haemorheologiai változások mechanizmusainak összefoglalása

A változások kiváltó okai, mint a szövetkárosodás, gyulladás, hypoxia, mechanikai trauma, szabadgyökök metabolikus és strukturális változásokat indukálnak a vörösvérsejtekben, amely a micro-rheologiai paraméterek (erythrocyta



57. ábra: A micro- és macrorheologiai paraméterek, a microcirculatio és a perfusio romlásának összefüggései

(Németh N, Deák Á, Szentkereszty Zs, Pető K, Clin. Hemorheol. Microcirc. 2018;69(1-2):133–140.)

DU tankönyvészet

deformabilitás és aggregatio) romlásához vezet. Az akut fázis reakciók részeként kialakuló haemoconcentratio és fibrinogén koncentráció emelkedés direkt növeli a vér- és plazma viszkozitását, valamint fokozza az aggregatiót.

A kialakuló microcirculatiós zavarok, endothel dysfunctio és a vér fluiditásának csökkenése további perfusiós zavarokat idéznek elő *(57. ábra).*

10.9. Anaesthesiologiai vonatkozások

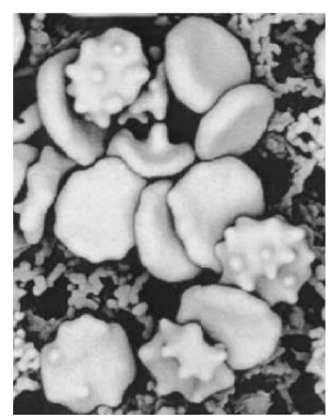
Inhalatiós anaestheticumok: Nagy részük csökkenti a teljes vér és plazma viszkozitást vasodilatatio és vörösvérsejt aggregatio mérséklése révén (halothan). Az isofluran a halothanhoz képest csekély módon változtatja meg a haemorheologiai tulajdonságokat.

Intravenás anaestheticumok: Kevésbé csökkentik a vér viszkozitását, mint az inhalatiós anaestheticumok. A propofollról kimutatták, hogy a vörösvérsejt membránnal interakcióba lépve echinocytoid átalakulást eredményez, csökkenti a thrombocyta aggregatiót, míg a teljes vér és plazma viszkozitást alig befolyásolja.

Spinalis és epiduralis anaesthesia: Alkalmazása a keringő vérvolumen előzetes növelését teszi szükségessé, ezért a teljes vér és plazma viszkozitás csökken.

10.10. Intravenás kontrasztanyagok haemorheologiai hatásai

Közvetlenül a véráramba juttatott kontrasztanyagok befolyásolhatják a vér microrheologiai paramétereit. A iopromide, a ioxaglate és a gadolinium-DOTA dózisfüggően növelik a magas sebesség-grádiensnél mért vérviszkozitást, csökkentik az



58. ábra: A vörösvérsejtek echinocytoid transzformációja iopromide hatására scanning elektronmikroszópos felvételen.
(Franke RP és mtsai, Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;54:273-285.)

DUPress egyetemi jegyzetek

alacsony sebesség-grádiensnél mért vérviszkozitást, növelik a plazma viszkozitást, csökkentik a vörösvérsejt átlagos térfogatot, valamint csökkentik a thrombocyta aggregatiót. A Iopromide ezen kívül echinocytoid átalakulást indukál *(58. ábra)*.

Fontos szempont a kontrasztanyagok viszkozitása és ozmolaritása. A iodixanol (Visipaque) közel isotoniás, alig befolyásolja a rheologiai paramétereket.

DUPress e-jegyzetek

11. Terápiás vonatkozások

11.1. Általános szempontok

A haemorheologiai terápia fő szempontjai a vér fluiditás, a perfusiós nyomás, a percvolumen növelése, a vascularis rezisztencia kedvező irányba mozdítása. A klinikai haemorheologiában nehéz definiálni az abnormális haemorheologiai állapotot, így az adekvát rheoterápiát is. Kevés olyan gyógyszer ismert, amely például célzottan hatna a vörösvérsejtek micro-rheologiai eltéréseire. Ugyanakkor számos szer rendelkezik olyan közvetett hatással, amely kedvezően befolyásolja ezeket a paramétereket. Mindezekről a fejezet adta keretek és a jegyzet fókusza rövid áttekintést enged meg (Baskurt O.K., Hardeman M.R., Rampling M.W., Meiselman H.J.: Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. IOS Press, Amsterdam, 2007., valamint Bernát S.I, Pongrácz E.: A klinikai haemorheologia alapjai. Kornétás Kiadó, Budapest, 1999. alapján).

11.2. A vér viszkozitásra ható gyógyszerek és kezelési formák

A vér viszkozitásának csökkentésére a haemodilutio különböző formái említendőek meg elsődlegesen. Az egyik legősibb orvosi kezelés, az érmetszés hypovolaemiás haemodilutiónak tekinthető. Bizonyos esetekben kontrollált formája ma is használatos (polycytaemia, haemochromatosis). Az „endogen haemodilutio" különböző szerek hatására lokális vagy általános vasodilatio révén alakul ki, amikor az értágulás következtében az extracellularis térből folyadék áramlik az intravasalis térbe. Az isovolaemiás haemodilutio során a lebocsátott vérmennyiséget azonos volumenű plazmával/plazmapótszerrel helyettesítik. A hypervolaemiás haemodilutio klasszikus formái a különböző infúziós és vérkészítményekkel kivitelezett volementerápia.

A haemodilutio vér- és plazma viszkozitásban mutatkozó klinikai indikációit a XVII. táblázat összegzi. A haemodilutio általános kritériumai: haematocrit >45% (férfiak), >42% (nők); haemoglobin >160 g/l (férfiak), >150 g/l (nők); fibrinogén koncentráció >3,5 g/l (férfiak és nők).

DUPress egyjegyzetek

XVII. táblázat. Teljes vér- és plazma viszkozitás értékek hyperviscositas szindrómákban (Baskurt O.K., Hardeman M.R., Rampling M.W., Meiselman H.J., IOS Press, 2007 alapján)

Teljes vér viszkozitás	Érték [mPas]
alacsony sebesség-gradiensnél (≤ 10 s^{-1})	> 8-9
közepes sebesség-gradiensnél (50–100 s^{-1})	> 5
magas sebesség-gradiensnél (≥ 150 s^{-1})	> 4,5
Plazma viszkozitás	> 1,35

A vér viszkozitása csökkenthető:

- volumenterápia révén: krisztalloidok, kolloidok (N.B. a dextrán a plazma viszkozitást emeli).
- erythropheresissel (sarlósejtes anaemia, primer és secunder polycytaemia)
- vasodilatatio révén: nikotinsav-derivátumok, nitroglicerin és egyéb nitrátok
- az érfal rugalmasságának növelésével: bioflavinok, növényi hatóanyag-kivonatok (micro-rheologiai paraméterekre is kedvező hatással)

11.3. A plazma viszkozitását csökkentő gyógyszerek és eljárások

A haemodilutiós eljárások mellett megemlítendő, hogy a vér lipid és lipoprotein szintjének csökkentése is kedvező hatással bír a plazma viszkozitásra. Fibrátok (clofibrát, etofibrát, fenofibrát, bezafibrát, gemfibrozil) alkalmazásával a plazma viszkozitás is csökkenthető.

A fibrinogén koncentráció csökkentésével is elérhető a plazma viszkozitás csökkenése. A malayziai vipera *(Calloselasma rhodostoma)* mérgéből kivont Ancrod gyorsan csökkenti a fibrinogén koncentrációt, ezzel a plazma viszkozitást az anticoagulans hatása mellett.

A streptase, urokinase és heparinoidok fibrinolyticus illeve anticoagulans hatásuk révén kedvezőek rheologiai szempontból. Az 1954-ben felfedezett Napentosan-polysulphat (PPS), az SP-54 néven is ismert szer hatására fokozódik a szöveti plazminogén aktivátor felszabadulása, ezzel stimulálódik a fibrinolyticus rendszer. Csökken a plazma és vér viszkozitás, mérséklődik a vörösvérsejt aggregatio.

DUPress e-jegyzetek

11.4. A vörösvérsejt deformabilitását javító gyógyszerek

Az 1970-es évek elején bevezetett xantin-derivát pentoxifyllin hatása ellentmondásos, nagyobb dózisoknál igazolt. Perifériás keringészavarokban használható. Hatására a vörösvérsejtek flexibilitása javul.

Esszenciális foszfolipidek, telítetlen zsírsavak a megfelelő membrántulajdonságok fenntartásához hasznosak.

A korábbi fejezetekben szó esett a szabadgyökök okozta károsodásokról, amelyek jelentősen csökkenthetik a vörösvérsejtek deformabilitását. Az E-vitamin, különböző antioxidáns szerek, és a xanthin-oxidáz gátló allopurinol hatásosak lehetnek az ilyen jellegű károsodások kivédésben, mérséklésében.

Számos értágító, vasoprotectiv, illetve thrombocyta aggregatio gátló szer ismert, amelyeknek vörösvérsejt deformabilitást javító hatása is van: pl. calciumdobesilat, naftidrofuryl, vincamin, ticlipodin.

11.5. A vörösvérsejt aggregatióra ható gyógyszerek

Minden olyan szer és eljárás, amely révén csökken a fibrinogén koncentráció, egyúttal mérsékli a vörösvérsejt aggregatiót is: fibrinolyticus szerek, SP-54, rheopheresis, heparin indukálta extracorporalis LDL precipitáció (HELP) rendszer.

11.6. Thrombocyta aggregatio gátló szerek

A vérlemezkék aggregatiójának és adhaesiójának gátlása több módon történhet:

- a thromboxan A_2 szintézis gátlásával: acetilszalicilsav
- $P2Y_{12}$ antagonistákkal: clopidogrel, prasugrel, ticagrelor
- GPIIb/IIIa antagonistákkal: tirofiban, eptifibatid, abciximab

11.7. Sebészi eljárások, manőverek az ischaemia-reperfusio kóros haemorheologiai és microcirculatiós változásainak megelőzésére, mérséklésére

Szöveti/szervi ischaemia-reperfuso során metabolikus, szabadgyök- és gyulladásos mediátorok okozta károsodások, köztük micro-rheologiai és microcirculatiós

DUPress e-jegyzetek

eltérések, a korábbi fejezetekben említett ischaemiás conditionálással (rövid ischaemiás ciklusok alkalmazása) részben mérsékelhetőek.

Az ischaemiás conditionálás történhet a manifeszt ischaemia előtt (ischaemiás preconditionálás) közvetlenül vagy órákkal korábban, de megvalósítható közvetlenül az ischaemia(-reperfusio) után is (ischaemiás postconditionálás). Kivitelezhető a célszerven (lokális) vagy egy távolabbi szerven (távoli szervi pre-, per- és postconditionálás, például végtagleszorítással). A rövid ischaemiás ciklusok hossza, száma és a köztes reperfusiós szakasz időtartama kísérletes és klinikai tanulmányokban széles spektrumú variációt mutat, konszenzus még nem alakult ki.

DUPress e-jegyzetek

12. Forrás, válogatott irodalom

Könyvek, könyvfejezetek, monográfiák, értekezések

Baskurt O. K., Hardeman M. R., Rampling M. W., Meiselman H. J. (szerk.): Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. IOS Press, Amsterdam, 2007.

Baskurt O. K., Neu B., Meiselman H. J.: Red Blood Cell Aggregation, CRC Press, Boca Raton, 2012.

Bernát S. I., Pongrácz E (szerk.).: A klinikai haemorheologia alapjai. Kornétás Kiadó, Budapest, 1999.

Chandran K. B., Rittgers S.E., Yoganathan A. P. (szerk.): Biofluid Mechanics. CRC Press, Boca Raton, 2012.

Damjanovich S., Fidy J., Szöllősi J. (szerk.): Orvosi biofizika. 3. javított kiadás. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2007.

Ehrly A. M. (szerk.): Therapeutic Hemorheology. Spinger-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1991.

Fonyó A., Geiszt M. (szerk.): Az orvosi élettan tankönyve. 8. átdolgozott kiadás. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2019.

Kapronczay K. (szerk.): Az orvostörténelem századai. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010.

Leahy M. J. (szerk.): Microcirculation imaging. Wiley-Blackwell, Weinheim, 2012.

Lehmann C. (szerk.): Intravital microcirculation imaging. Pabst Science Publishers, Lengerich, 2012.

Lowe G. D. O. (szerk.): Clinical Blood Rheology. Vol. 1., 2. CRC Press, Boca Raton, 1988.

Monos E.: A vénás rendszer élettana. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010.

Monos E.: Hemodinamika – A vérkeringés biomechanikája. 4. átdolgozott kiadás, Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018.

Nemes Cs. (szerk.): Orvostörténelem – Az egyetemes és a magyar medicina kultúrtörténeti vonatkozásaival. Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen, 2008.

DUPress e-jegyzetek

Németh N., Szabó A.: Microcirculation. In: Advances in Experimental Surgery: Volume 2. Ed.: Huifang Chen, Paolo Martins, Nova Science Publishers, Hauppauge (NY), 2018. pp. 317–357.
Németh N.: Haemorheologiai vizsgálatok a kísérletes sebészeti és mikrosebészeti kutatások szolgálatában. MTA Doktori értekezés, 2016.
Schultheisz E. (szerk.): Orvostörténelem. SOTE Egyetemi jegyzet, Budapest, 1992.
Tuma R. F., Duran W. N., Ley K. (szerk.): Handbook of Physiology: Microcirculation. 2nd Edition. Elsevier, Amsterdam. 2008.
van Zutphen L. F. M., Baumans V., Beynen A. C.: Principles of Laboratory Animal Science. Elsevier, Amsterdam, 2001.
Viallat A., Abkarian M. (szerk.): Dynamics of Blood Cell Suspensions in Microflow. CRC Press, Boca Raton, 2020.

Folyóiratcikkek (összefoglalók és eredeti közlemények)

Aird W. C.: Discovery of the cardiovascular system: from Galen to William Harvey. J. Thromb. Haemostas. 2011;9(Suppl 1):118–129.
Barshtein G., Arbell D., Livshits L., Gural A.: Is it possible to reverse the storage-induced lesion of red blood cells? Front. Physiol. 2018;9:914.
Baskurt O. K., Boynard M., Cokelet G. C., Connes P., Cooke B. M., Forconi S., Hardeman M. R., Jung F., Liao F., Meiselman H. J., Nash G., Németh N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J. L., International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods: New guidelines for hemorheological laboratory techniques. Clin Hemorheol Microcirc 2009;42:75–97.
Baskurt O. K., Fisher T. C., Meiselman H. J.: Sensitivity of the cell transit analyser (CTA) to alterations of red blood cell deformability: role of cell size-pore size ratio and sample preparation. Clin. Hemorheol. 1996;16:753–765.
Baskurt O. K., Hardeman M. R., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Németh N., Shin S., Alexy T., Meiselman H. J.: Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. Biorheology 2009;46(3): 251–264.
Baskurt O. K., Hardeman M. R., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Németh N., Shin S., Alexy T., Meiselman H. J.: Parameterization of red blood cell elongation index-shear stress curves obtained by ektacytometry. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2009;69(7):777–788.

DUPress egyetemi jegyzetek

Baskurt O. K., Meiselman H. J.: Blood rheology and hemodynamics. Semin Thromb Hemost 2003;29:435–450.

Baskurt O. K., Meiselman H. J.: Comparative hemorheology. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:61–70.

Baskurt O. K., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Németh N., Alexy T., Shin S., Hardeman M. R., Meiselman H. J.: Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009; 43(4):283–298.

Baskurt O. K.: Deformability of red blood cells from different species studied by resistive pulse shape analysis technique. Biorheology 1996;33:169–179.

Baskurt O. K.: In vivo correlates of altered blood rheology. Biorheology 2008;45:629–638.

Bateman R. M., Sharpe M. D., Singer M., Ellis C. G.: The effect of sepsis on the erythrocyte. Int. J. Mol. Sci. 2017;18(9). pii: E1932.

Bernát S. I., Bogár L., Csornai M., Imre S., Juricskay I., Kollár L., Novák Z., Pécsváradi Zs., Pongrácz E., Rozsos I., Tóth K.: Módszertani útmutató a haemorheologiai mérések végzéséhez. Érbetegségek 2005;1:27–33.

Bessis M., Mohandas N., Feo C.: Automated ektacytometry: a new method of measuring red cell deformability and red cell indices. Blood Cells 1980;6: 315–327.

Bishop J. J., Popel A. S., Intaglietta M., Johnson P. C.: Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. Biorheology 2001;38:263–274.

Bitbol M.: Red blood cell orientation in orbit C = 0. Biophys. J. 1986;49:1055–1068.

Bogár L., Juricskay I., Késmárky G., Kenyeres P., Tóth K.: Erythrocyte transport efficacy of human blood: a rheological point of view. Eur. J. Clin. Invest. 2005;35:687–690.

Breslin J. W., Yang Y., Scallan J. P., Sweat R. S., Adderley S. P., Murfee W. L.: Lymphatic vessel network structure and physiology. Compr. Physiol. 2018;9(1):207–299.

Breslin J. W.: Mechanical forces and lymphatic transport. Microvasc. Res. 2014;96:46–54.

Brown C. H. 3rd., Lemuth R. F., Hellums J. D., Leverett L. B., Alfrey C. P. Response of human platelets to sheer stress. Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs. 1975;21:35–39.

Brown D. W., Giles W. H., Croft J. B.: Hematocrit and the risk of coronary heart disease mortality. Am. Heart. J. 2001;142:657–663.

Dunapress egyetemi jegyzetek

Brun J.: Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2002;26:63–79.

Buerk D. G., Barbee K. A., Jaron D.: Nitric oxide signaling in the microcirculation. Crit. Rev. Biomed. Eng. 2011;39(5):397–433.

Campisi C., Witte M. H., Fulcheri E., Campisi C., Bellini C., Villa G., Campisi C., Santi P. L., Parodi A., Murdaca G., Puppo F., Boccardo F.: General surgery, translational lymphology and lymphatic surgery. Int. Angiol. 2011;30(6): 504–521.

Cao Y.: Tumor angiogenesis and molecular targets for therapy. Front. Biosci. 2009;14:3962–3973.

Cardoso A. V., Pereira M. H., Marcondes G. A., Ferreira A. R., Araújo P. R. Microplate reader analysis of triatomine saliva effect on erythrocyte aggregation. Mat. Res. 2007;10(1):31–36.

Carvalho F. A., Connell S., Miltenberger-Miltenyi G., Pereira S. V., Tavares A., Ariëns R. A., Santos N. C.: Atomic force microscopy-based molecular recognition of a fibrinogen receptor on human erythrocytes. ACS Nano 2010;4:4609–4620.

Chan C. H., Pieper I. L., Fleming S., Friedmann Y., Foster G., Hawkins K., Thornton C. A., Kanamarlapudi V. The effect of shear stress on the size, structure, and function of human von Willebrand factor. Artif. Organs. 2014;38(9):741–750.

Chen D., Kaul D. K.: Rheologic and hemodynamic characteristics of red cells of mouse, rat and human. Biorheology 1994;31:103–113.

Chen Z., Mondal N. K., Ding J., Koenig S. C., Slaughter M. S., Wu Z. J. Paradoxical effect of nonphysiological shear stress on platelets and von Willebrand Factor. Artif. Organs. 2016;40(7):659–668.

Chien S., Usami S., Dellenback R. J., Bryant C. A.: Comparative hemorheology – hematological implications of species differences in blood viscosity. Biorheology 1971;8:35–57.

Chow T. W., Hellums J. D., Moake J. L., Kroll M. H. Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation. Blood. 1992;80(1):113–120.

Cicha I., Suzuki Y., Tateishi N., Maeda N.: Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation: pH dependency and cell morphology. Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2003;284:H2335–H2342.

Clark M. R., Mohandas N., Shohet S. B.: Osmotic gradient ektacytometry: comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance. Blood 1983;61:899–910.

DUPress e-jegyzetek

Copley A. L..: The history of clinical hemorheology. Clin. Hemorheol. 1985;5:765–812.
Copley A. L.: The rheology of blood. A survey. J. Colloid. Sci. 1952;7:323–333.
Cortese-Krott M. M., Kelm M.: Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function? Redox Biol. 2014;2:251–258.
de Oliveira S., Saldanha C.: An overview about erythrocyte membrane. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2010;44:63–74.
Delaunay J.: The hereditary stomatocytoses: genetic disorders of the red cell membrane permeability to monovalent cations. Semin. Hematol. 2004;41:165–172.
Doffin J., Perrault R., Garnaud G.: Blood viscosity measurements in both extensional and shear flow by a falling ball viscometer. Biorheology Suppl. 1984; 1:89–93.
Dormandy J., Flute P., Mátrai Á., Bogár L., Mikita J.: The new St. George's blood filtrometer. Clin. Hemorheol. 1985;5:975–983.
Dupire J., Socol M., Viallat A.: Full dynamics of a red blood cell in shear flow. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2012;109:20808–20813.
Eltzschig H., Eckle T.: Ischemia and reperfusion – from mechanism to translation. Nature Medicine 2011;17:1391–1401.
Ernst E, Mátrai Á.: Zum Thema 'optimaler Hämatocrit' – Rationale der Hämodilutionstherapie, Herz Kreislauf 1983;9:409–415.
Fåhraeus R., Lindqvist T.: The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. Am. J. Physiol. 1931;96:562–568.
Fåhraeus R.: The influence of the rouleau formation of the erythrocytes on the rheology of the blood. Acta Medica Scandinavica 1958;161:151–165.
Feinglass J., McDermott M. M., Foroohar M., Pearce W. H.: Gender differences in interventional management of peripheral vascular disease: evidence from a blood flow laboratory population. Ann. Vasc. Surg. 1994;8:343–349.
Fisher T., Schmid-Schönbein H.: Tank tread motion of red cell membranes in viscometric flow. In: Red Cell Rheology, Bessis M., Shohet S.B., Mohandas N. (szerk.), Springer Verlag, Berlin, 1978, pp. 347–358.
Fisher T. M.: Tank-tread frequency of the red cell membrane: dependence on the viscosity of the suspending medium. Biophys. J. 2007;93:2553–2561.
Franke R. P., Scharnweber T., Fuhrmann R., Mrowietz C., Jung F.: Effect of radiographic contrast media (Iodixanol, Iopromide) on the spectrin/actin-network of the membranous cytoskeleton of erythrocytes. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;54:273–285.
Geddes J. B., Carr R. T., Wu F., Lao Y., Maher M.: Blood flow in microvascular networks: a study in nonlinear biology. Chaos 2010;20:045123.

DUPLA Egyetemi Jegyzetek

Goldsmith H. L., Marlow J.: Flow behavior of erythrocytes, I. Rotation and deformation in dilute suspensions. Proc. R. Soc. Lond. B 1972;182:351–384.
Grau M., Cremer J. M., Schmeichel S., Kunkel M., Bloch W.: Comparisons of blood parameters, red blood cell deformability and circulating nitric oxide between males and females considering hormonal contraception: a longitudinal gender study. Front. Physiol. 2018;9:1835.
Guven G., Hilty M. P., Ince C.: Microcirculation: physiology, pathophysiology, and clinical application. Blood Purif. 2020;49(1-2):143–150.
Hansen K. C., D'Alessandro A., Clement C. C., Santambrogio L.: Lymph formation, composition and circulation: a proteomics perspective. Int. Immunol. 2015;27(5):219–227.
Hardeman M. R., Dobbe J. G. G., Ince C.: The laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2001;25:1–11.
Hardeman M. R., Goedhart R. P. T., Dobbe J. G. G., Lettinga K. P.: Laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA). 1. A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. Clin. Hemorheol. 1994;14:605–618.
Harkness J.: The viscosity of human blood plasma; its measurement in health and disease. Biorheology 1971;8:171–193.
Heo Y., Jung H., Shin S.: Osmotic deformability of erythrocytes at various shear stresses. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2015;59:211–218.
Hevér T., Kiss F., Sajtos E., Mátyás L., Németh N.: Are there arterio-venous differences of blood micro-rheological variables in laboratory rats? Korea-Aust. Rheol. J. 2010;22(1):59–64.
Holmberg A., Sandhagen B., Bergqvist D.: Hemorheologic variables in critical limb ischemia before and after infrainguinal reconstruction. J. Vasc. Surg. 2000;31:691–695.
Huisjes R., Bogdanova A., van Solinge W. W., Schiffelers R. M., Kaestner L., van Wijk R.: Squeezing for life – properties of red blood cell deformability. Front. Physiol. 2018;9:656.
Johnson R. M.: pH effects on red blood cell deformability. Blood Cells 1985;11: 317–321.
Jung F., Mrowietz C., Hiebl B., Franke R. P., Pindur G., Sternitzky R.: Influence of rheological parameters on the velocity of erythrocytes passing nailfold capillaries in humans. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2011;48:129–139.
Kameneva M. V., Repko B. M., Krasik E. F., Perricelli B. C., Borovetz H. S.: Polyethylene glycol additives reduce hemolysis in red blood cell suspensions exposed to mechanical stress. ASAIO J. 2003;49:537–542.

Dunpress e-jegyzetek

Kameneva M. V., Watach M. J., Borovetz H. S.: Gender difference in rheologic properties of blood and risk of cardiovascular diseases. Clin Hemorheol Microcirc 1999;21:357–363.

Kayar E., Mat F., Meiselman H. J., Baskurt O. K.: Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. Biorheology 2001;38: 405–414.

Késmárky G., Kenyeres P., Rábai M., Tóth K.: Plasma viscosity: a forgotten variable. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2008;39:243–246.

Kiss F., Klárik Z., Tóth E., Pető K., Mikó I., Németh N.: The investigation of inter-species diversity of erythrocyte aggregation properties by two different photometric methods in four animal species. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl) 2015;99(6):1074–1083.

Kiss F., Sajtos E., Mátyás L., Magyar Zs., Furka I., Mikó I., Németh N.: Testing red blood cell deformability of laboratory animals by slit-flow ektacytometry in various viscosity media: inter-species and gender differences. Korea-Aust. Rheol. J. 2010;22(2):113–118.

Kiss F., Tóth E., Miszti-Blasius K., Németh N.: The effect of centrifugation at various g force levels on micro-rheological properties of rat, dog, pig and human red blood cells. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016;62(3):215–227.

Klárik Z., Kiss F., Mikó I., Németh N.: Aorto-porto-caval micro-rheological differences of red blood cells in laboratory rats: further deformability and ektacytometrial osmoscan data. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53(3): 217–229.

Koppensteiner R.: Blood rheology in emergency medicine. Semin. Thromb. Hemost. 1996;22:89–91.

Leal J. K. F., Adjobo-Hermans M. J. W., Bosman G. J. C. G. M.: Red blood cell homeostasis: mechanisms and effects of microvesicle generation in health and disease. Front. Physiol. 2018;9:703.

Lee B. K., Durairaj A., Mehra A., Wenby R. B., Meiselman H. J., Alexy T.: Microcirculatory dysfunction in cardiac syndrome X: role of abnormal blood rheology. Microcirculation 2008;15:451–459.

Leverett L. B., Hellums J. D., Alfrey C. P., Lynch B.C.: Red blood cell damage by shear stress. Biophys. J. 1972;12:257–273.

Lipowsky H. H.: Microvascular rheology and hemodynamics. Microcirculation 2005;12:5–15.

Machiedo G. W., Zaets S., Berezina T., Xu D. Z., Spolarics Z., Deitch E. A.: Red blood cell damage after trauma-hemorrhage is modulated by gender. J. Trauma 2004;56:837–844.

Dupress előzetes

Maeda N.: Erythrocyte rheology in microcirculation. Jpn. J. Physiol. 1996;46:1–14.
Margaris K. N., Black R.A.:Modelling the lymphatic system: challenges and opportunities. J. R. Soc. Interface. 2012;9(69):601–612.
Mátrai Á., Reid H., Bogár L., Flute P. T., Dormandy J. A.: Initial filtration rate and initial clogging in the Hemorheometre. Biorheology 1985;22:275–284.
Mátrai Á., Whittington R. B., Ernst E.: A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. Clin. Hemorheol. 1987;7:261–265.
McCord J. M.: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. N. Engl. J. Med. 1985;312:159–163.
McMahon T. J.:Red blood cell deformability, vasoactive mediators, and adhesion. Front. Physiol. 2019;10:1417.
Meiselman H. J.: Morphological determinants of red blood cell deformability. Scand. J. Clin. Lab. Invest 1981;41(Suppl. 156):27–34.
Meiselman H. J.: Rheology of shape-transformed human red cells. Biorheology 1978;15:225–237.
Mendelsohn M. E., Karas R.H.: Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. Science 2005;308:1583–1587.
Menger M. D., Steiner D., Messmer K.: Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of 'no-reflow'. Am. J. Physiol. 1992;263:H1892–H1900.
Meram E., Yilmaz B. D., Bas C., Atac N., Yalcin O., Meiselman H. J., Baskurt O. K.: Shear stress-induced improvement of red blood cell deformability. Biorheology 2013;50(3-4):165–176.
Mester A., Magyar Zs., Molnár Á., Somogyi V., Tánczos B., Pető K., Németh N.: Age- and gender-related hemorheological alterations in intestinal ischemia-reperfusion in the rat. J. Surg. Res. 2018;225:68–75.
Mikó I., Bráth E., Németh N., Furka A., Sipka S. Jr., Pető K., Serfőző J., Kovács J., Imre S., Benkő I., Galuska L., Sipka S., Ács G., Furka I.: Spleen autotransplantation. Morphological and functional follow-up after spleen autotransplantation in mice: a research summary. Microsurgery 2007;27:312–316.
Mikó I., Németh N., Sógor V., Kiss F., Tóth E., Pető K., Furka A., Ványolos E., Tóth L., Varga J., Szigeti K., Benkő I., Oláh A. V., Furka I.: Comparative erythrocyte deformability investigations by filtrometry, slit-flow and rotational ektacytometry in a long-term follow-up animal study on splenectomy and different spleen preserving operative techniques: Partial or subtotal spleen resection and spleen autotransplantation. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2017;66(1):83–96.

DUPress e-jegyzetek

Mohandas N., Chasis J. A.: Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. Semin. Hematol. 1993;30:171–192.

Mohandas N., Gallagher P. G.: Red cell membrane: past, present, and future. Blood 2008;112:3939–3948.

Moore J. E. Jr., Bertram C. D.: Lymphatic system flows. Annu. Rev. Fluid Mech. 2018;50:459–482.

Moras M., Lefevre S. D., Ostuni M. A.: From erythroblasts to mature red blood cells: organelle clearance in mammals. Front. Physiol. 2017;8:1076.

Musielak M.: Red blood cell-deformability measurement: review of techniques. Clin. Hemorheol. Microcirc 2009;42:47–64.

Nagy J. A., Chang S. H., Dvorak A. M., Dvorak H. F.: Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know? Br. J. Cancer 2009;100(6): 865–869.

Németh N., Alexy T., Furka A., Baskurt O. K., Meiselman H. J., Furka I., Mikó I.: Inter-species differences in hematocrit to blood viscosity ratio. Biorheology 2009;46(2):155–165.

Németh N., Baskurt O. K., Meiselman H. J., Furka I., Mikó I.: Hemorheological measurements in experimental animals: Further consideration of cell size – pore size relations in filtrometry. Korea-Aust. Rheol. J. 2009;21(3):155–160.

Németh N., Baskurt O. K., Meiselman H. J., Kiss F., Uyuklu M., Hevér T., Sajtos E., Kenyeres P., Tóth K., Furka I., Mikó I.: Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations: Inter-species differences and the effects of duration and temperature. Korea-Aust. Rheol. J. 2009;21(2):127–133.

Németh N., Baskurt O. K., Meiselman H. J., Mikó I.: Species-specific effects of anticoagulants on red blood cell deformability. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009;43(3):257–259.

Németh N., Deák Á., Szentkereszty Zs., Pető K.: Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2018;69(1-2):133–140.

Németh N., Gulyás A., Bálint A., Pető K., Bráth E., Kiss F., Furka I., Baskurt O. K., Mikó I.: Measurement of erythrocyte deformability and methodological adaptation for small-animal microsurgical models. Microsurgery 2006;26(1):33–37.

Németh N., Kiss F., Furka I., Mikó I.: Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2010;45 (2-4):263–272.

Németh N., Kiss F., Hevér T., Bráth E., Sajtos E., Furka I., Mikó I.: Hemorheological consequences of hind limb ischemia-reperfusion differ in nor-

Dunapress Egyetek

mal and gonadectomised male and female rats. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2012;50(3):197–211.
Németh N., Kiss F., Klárik Z., Mikó I.: Comparative osmotic gradient ektacytometry data on inter-species differences of experimental animals. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2014;57(1):1–8.
Németh N., Kiss F., Magyar Zs., Miszti-Blasius K., Furka I.: Following-up hemorheological consequences of gonadectomy in male and female rats. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2012;50(4):231–243.
Németh N., Kiss F., Miszti-Blasius K.: Interpretation of osmotic gradient ektacytometry (osmoscan) data: a comparative study for methodological standards. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2015;75(3):213–222.
Németh N., Sógor V., Kiss F., Ülker P.: Interspecies diversity of erythrocyte mechanical stability at various combinations in magnitude and duration of shear stress, and osmolality. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016;63(4):381–398.
Obeid A. N., Barnett N. J., Dougherty G., Ward G.: A critical review of laser Doppler flowmetry. J. Med. Eng. Technol. 1990;14:178–181.
Ohhashi T., Mizuno R., Ikomi F., Kawai Y.: Current topics of physiology and pharmacology in the lymphatic system. Pharmacol. Ther. 2005;105(2):165–188.
Olszewski W. L.: The lymphatic system in body homeostasis: physiological conditions. Lymphat. Res. Biol. 2003;1(1):11–21.
Plasenzotti R., Stoiber B., Posch M., Windberger U.: Red blood cell deformability and aggregation behaviour in different animal species. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004;31:105–111.
Popel A. S., Johnson P. C., Kameneva M. V., Wild M. A.: Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species. J. Appl. Physiol. 1994;77:1790–1794.
Popel A. S., Johnson P. C.: Microcirculation and hemorheology. Ann. Rev. Fluid. Mech. 2005;37:43–69.
Pretini V., Koenen M. H., Kaestner L., Fens M. H. A. M., Schiffelers R. M., Bartels M., van Wijk R.: Red blood cells: chasing interactions. Front. Physiol. 2019;10:945.
Pries A. R., Secomb T. W.: Rheology of the microcirculation. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2003;29:143–148.
Pushin D. M., Salikhova T. Y., Zlobina K. E., Guria G. T. Platelet activation via dynamic conformational changes of von Willebrand factor under shear. PLoS One. 2020;15(6):e0234501.
Rampling M. W.: The history of the theory of the circulation of the blood. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016;64(4):541–549.

DUPress Digitális Kiadványtár

Ramstack J. M., Zuckerman L., Mockros L. F. Shear-induced activation of platelets. J. Biomech. 1979;12(2):113–125.
Rana A., Westein E., Niego B., Hagemeyer C. E. Shear-dependent platelet aggregation: mechanisms and therapeutic opportunities. Front. Cardiovasc. Med. 2019;6:141.
Reddy N. P.: Lymph circulation: physiology, pharmacology, and biomechanics. Crit Rev Biomed Eng. 1986;14(1):45–91.
Reffelmann T., Kloner R. A.: The „no-reflow" phenomenon: basic science and clinical correlates. Heart 2002;87:162–168.
Reinhart W. H., Chien S.: Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation: roles of cell geometry and cell shape. Blood 1980;67:1110–1118.
Reinhart W. H., Gaudenz R., Walter R.: Acidosis induced by lactate, pyruvate, or HCl increases blood viscosity. Crit. Care 2002;17:38–42.
Reinhart W. H., Piety N. Z., Goede J. S., Shevkoplyas S. S.: Effect of osmolality on erythrocyte rheology and perfusion of an artificial microvascular network. Microvasc. Res. 2015;98C:102–107.
Reinhart W. H., Singh A.: Erythrocyte aggregation: the roles of cell deformability and geometry. Eur. J. Clin. Invest. 1990;20:458–462.
Reinhart W. H.: The optimum hematocrit. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016;64(4):575–585.
Reinhart W. H: Platelets in vascular diseases. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:71–79.
Saldanha C.: Fibrinogen interaction with the red blood cell membrane. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:39–44.
Scallan J. P., Zawieja S. D., Castorena-Gonzalez J. A., Davis M. J.: Lymphatic pumping: mechanics, mechanisms and malfunction. J. Physiol. 2016;594(20): 5749–5768.
Schmid-Schönbein H., Malotta H., Striesow F.: Erythrocyte aggregation: causes, consequences and methods for assessment. Tijdschr NVKC 1990;15:88–97.
Semenov A. N., Shirshin E. A., Muravyov A. V., Priezzhev A. V.: The effects of different signaling pathways in adenylyl cyclase stimulation on red blood cells deformability. Front. Physiol. 2019;10:923.
Sheriff J., Soares J. S., Xenos M., Jesty J., Slepian M. J., Bluestein D. Evaluation of shear-induced platelet activation models under constant and dynamic shear stress loading conditions relevant to devices. Ann. Biomed. Eng. 2013;41(6):1279–1296.
Shevkoplyas S. S., Yoshida T., Gifford S. C., Bitensky M. W.: Direct measurement of the impact of impaired erythrocyte deformability on microvascular network perfusion in a microfluidic device. Lab Chip 2006;6:914–920.

DUPress ejegyzetek

Shields J. W.: High points in the history of Lymphology 1602-2001. Lymphology. 2001;34(2):51–68.
Shin S., Ku Y., Park M. S., Suh J. S.: Slit-flow ektacytometry: laser diffraction in a slit rheometer. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 2005;65:6–13.
Simmonds M. J., Baskurt O. K., Meiselman H. J., Marshall-Gradisnik S. M.: A comparison of capillary and venous sampling methods for the use in haemorheology studies. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2011;47:111–119.
Simmonds M. J., Detterich J. A., Connes P.: Nitric oxide, vasodilation and the red blood cell. Biorheology. 2014;51(2-3):121–134.
Somogyi V., Pető K., Deák Á., Tánczos B., Németh N.: Effects of aging and gender on micro-rheology of blood in 3 to 18 months old male and female Wistar (Crl:WI) rats. Biorheology. 2018;54(5-6):127–140.
Son K. H., Lim C. H., Song E. J., Sun K., Son H. S., Lee S. H.: Inter-species hemorheologic differences in arterial and venous blood. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2010;44:27–33.
Song X., Li G., Vaagez J., Valen G.: Effects of sex, gonadectomy, and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia–reperfusion injury in mice. Acta Physiol. Scand. 2003;177:459–466.
Starling E. H.: On the absorption of fluid from the connective tissue spaces. J. Physiol. 1896;19:312–326.
Stern M. D.: In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. Nature 1975;254:56–58.
Stuart J.: Erythrocyte rheology. J. Clin. Pathol. 1985;38:965–977.
Szabó A., Vollmar B., Boros M., Menger M. D.: Gender differences in ischemia-reperfusion-induced microcirculatory and epithelial dysfunction in the small intestine. Life Sci. 2006;78:3058–3065.
Tran R., Myers D. R., Ciciliano J., Trybus Hardy E. L., Sakurai Y., Ahn B., Qiu Y., Mannino R. G., Fay M. E., Lam W. A. Biomechanics of haemostasis and thrombosis in health and disease: from the macro- to molecular scale. J Cell Mol Med. 2013;17(5):579–596.
Ulker P., Yaras N., Yalcin O., Celik-Ozenci C., Johnson P. C., Meiselman H. J., Baskurt O. K.: Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells. Nitric Oxide 2011;24(4):184–191.
Usami S., Chien S., Gregersen M. I.: Viscometric characteristic of blood of the elephant, man, dog, sheep, and goat. Am. J. Physiol. 1969;217:884–890.
Uyuklu M., Meiselman H. J., Baskurt O. K.: Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009;41:179–188.

DUPress elegyzetek

Vayá A., Suescun M.: Hemorheological parameters as independent predictors of venous thromboembolism. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:131–141.

Vollmar B., Menger M.: Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. Langenbecks Arch. Surg. 2011;396:13–29.

von der Weid P. Y.: Lymphatic vessel pumping. Adv. Exp. Med. Biol. 2019;1124: 357–377.

von Tempelhoff G. F., Nieman F., Heilmann L., Hommel G.: Association between blood rheology, thrombosis and cancer survival in patients with gynecologic malignancy. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2000;22(2):107–130.

von Tempelhoff G. F., Schönmann N., Heilmann L., Pollow K., Hommel G.: Prognostic role of plasmaviscosity in breast cancer. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2002;26(1):55–61.

Wautier J. L., Wautier M. P.: Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013;53:11–21.

Wiegmann L., de Zélicourt D. A., Speer O., Muller A., Goede J. S., Seifert B., Kurtcuoglu V.: Influence of standard laboratory procedures on measures of erythrocyte damage. Front. Physiol. 2017;8:731.

Windberger U., Bartholovitsch A., Plasenzotti R., Korak K. J., Heinze G.: Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. Exp. Physiol .2003;88: 431–440.

Yamamoto A., Niimi H.: Effect of high osmotic media on blood viscosity and red blood cell deformability. Biorheology 1983;20:615–622.

Yu H., Kalogeris T., Korthuis R. J.: Reactive species-induced microvascular dysfunction in ischemia/reperfusion. Free Radic. Biol. Med. 2019;135:182–197.

Zhang J., Zhang X., Wang N., Fan Y., Ju H., Yang J., Wen J., Qu X.: What is the maximum duration to perform the hemorheological measurement for the human and mammals. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004;31:157–160.

DUPress elolvasó