

# ***In vitro* hemoreológiai kutatások, avagy a vörösvérsejt deformabilitás és aggregáció vizsgálata**

**Ph.D. értekezés**

**Szerző: Dr. Rábai Miklós**

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola  
Kísérletes Kardiológia program

Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán, Sc.D.

Témavezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán, Sc.D.

Prof. Dr. Herbert J. Meiselman, Sc.D.

Prof. Dr. Jack Feinberg, Ph.D.

Pécsi Tudományegyetem  
I. sz. Belgyógyászati Klinika  
Pécs

**2012**

## I. Bevezetés

A kardiovaszkuláris rizikófaktorok a Framingham Study és más epidemiológiai kutatások eredményeként kerültek leírásra. Más vizsgálatok a rizikócsökkentés alapelveit fektették le, ideértve az egészséges táplálkozás fontosságát; a mediterrán diéta tartását és a mérsékelt vörösbor fogyasztását is. Ezen alapvető kutatások ellenére a kardiovaszkuláris betegségek patofiziológiájában számos tényező maradt, amik részletesebb vizsgálatot igényelnének. Ilyen faktorok a keringő vér egyes paraméterei is.

A vér nem-Newtoni folyadék; sejteket, lipideket, fehérjéket, szénhidrátokat és elektrolitokat tartalmaz. A vér áramlását számos hemoreológiai paraméter határozza meg; ilyen a hematokrit, a plazma és a teljes vér viszkozitás, a plazma fehérjék, és a vörösvérsejtek deformabilitása és aggregációja is. Számos kutatás bizonyította, hogy egyes hemoreológiai paraméterek (pl: a hematokrit, a plazma fibrinogén és a vér viszkozitás) kardiovaszkuláris rizikófaktorok. Ezen paraméterek romlása károsítja a mikrokeringést. Más hemoreológiai paraméterek, mint a vörösvérsejt deformabilitás és aggregáció a tudományos és a klinikai érdeklődés középpontjában állnak. A csökkent deformabilitás és a fokozott aggregáció szintén negatívan befolyásolja a szöveti perfúziót.

Az általános megegyezés szerint a vörösvérsejt alakja, a sejt felületének és térfogatának aránya, a membrán viszkoelaszticitása és a sejtplazma viszkozitása határozza meg a vörösvérsejtek deformabilitását. A normális bikonkáv alaktól való eltérés, a csökkent felület-térfogat arány, az emelkedett membrán viszkozitás és a fokozott citoplazma viszkozitás is a vörösvérsejt deformabilitás csökkenésének irányába hat.

A vörösvérsejt deformabilitását a sejt számos funkcionális és strukturális változása befolyásolhatja. A vér szigorúan szabályozott tulajdonságainak változása, a sejtek mechanikai és oxidatív károsodása, parazita okozta fertőzés és genetikai betegségek is szerepet játszanak a vörösvérsejtek deformabilitásának károsodásában. A kóros deformabilitás különösen sarlósejtes anémiában szembetűnő. Ezen genetikai betegségben szenvedőknél a vörösvérsejtek - alacsony oxigén tenziójú körülmények között - a hemoglobin polimerizációja miatt merevvé válnak, és elakadva a kapillárisokban károsítják a szöveti perfúziót, és ezzel különböző szervek fájdalmas infarktuszait okozzák.

A vörösvérsejt aggregáció az *in vitro* kísérletes körülmények között plazmában vagy nagyméretű polimerek oldatában kialakuló véráramlás egyik fontos meghatározója. A folyamat során a vörösvérsejtek reverzibilis módon lineáris vagy 3D-s aggregátumokat hoznak létre. *In vivo* körülmények között az aggregáció alacsony nyírási viszonyok esetén jön csak létre. A vörösvérsejt aggregációt a vörösvérsejtek aggregabilitása (sejt-sejt interakció) és a körülöttük lévő makromolekulák koncentrációja határozza meg.

Napjainkban két különböző modell írja le az aggregáció folyamatát. A „bridging” elmélet értelmében a diszaggregációt eredményező nyírási erők képtelenek szétválasztani a vörösvérsejteket és az őket összekötő makromolekulák láncolatát. Míg a „depletion” modell szerint a csökkenő fehérje vagy polimer koncentráció eredményezte ozmotikus grádiens két szomszédos sejt összetapadásához vezet. Habár fokozott aggregáció számos kórkép esetén tapasztalható (pl: hipertónia, diabetes mellitus), a folyamatban szerepet játszó összes tényező teljes megértése még várat magára.

## II. Célkitűzések

Jelen *in vitro* vizsgálataink során vörösbor, alkoholmentes vörösborkivonat és etanol hatására bekövetkező vörösvérsejt deformabilitás és aggregációs változásokat szándékoztunk felderíteni. Egy másik kutatásunkban a vörösvérsejtek deformabilitásának ektacitometriával történő mérése során létrejövő fény szóródását elemeztük.

## III. Módszertan

Ezen vizsgálatok során a vörösvérsejtek deformabilitását LORCA ektacitométer (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer; R&R Mechatronics, Hoorn, Hollandia) segítségével mértük. A mérésekhez a készülék Couette áramlásába helyezett hígított vörösvérsejt szuszpenziót használtunk. Az áramlásban lévő vörösvérsejtek megtörik a készülék lézerefényét, aminek eredményeképpen a mintában lévő sejtekre jellemző diffrakciós kép keletkezik. A kép a sejtek deformálódása során kör alakúból ellipszis alakúvá változik. A diffrakciós mintázatot egy csatolt számítógépes rendszer elemzi, ami az összes alkalmazott nyírófeszültség (SS) értékre kiszámolja az ellipszis alakú diffrakciós kép átlóiból - (hosszúság - szélesség) / (hosszúság + szélesség) - az elongációs indexet (EI).

A vörösvérsejt aggregáció meghatározására a LORCA aggregométert használtuk. A Couette áramlásba helyezett vérsejtek diszaggregációjához nagy nyíróerőt ( $500 \text{ s}^{-1}$ ) alkalmaz a műszer, ami hirtelen nullára csökken. Az aggregáció folyamata során a sejtek által visszatükrözött lézerefény intenzitásának változásából kiszámolható az aggregációs index. A vörösvérsejt aggregáció egy másik fontos és mérhető paramétere a nyírási küszöbfeszültség, ami a teljes diszaggregációhoz szükséges legkisebb nyíróerőt határozza meg.

A vörösvérsejt aggregációt a Myrenne aggregométer (modell MA-1, Myrenne GmbH, Roetgen, Németország) segítségével is mértük. A készülék infravörös fényt használva átvilágítja a műszer mérőkamrájába helyezett vörösvérsejt szuszpenziót. Először a sejteket nagy nyíróerővel ( $600 \text{ s}^{-1}$ ) diszaggregálja, majd a nyírás hirtelen nullára zuhan, vagy  $3 \text{ s}^{-1}$ -ra csökken. A készülék a rendszeren átvilágító infravörös fény intenzitásának változásából két, dimenzió nélküli számot ad eredményül; az M paraméter a nyírás nélküli, míg az M1 paraméter nagyon alacsony nyírás mellett adja meg a vörösvérsejt aggregációt. A paraméterek növekedése fokozott aggregációra utal.

## IV. Vörösbor, alkoholmentes vörösborkivonat és etanol *in vitro* hemoreológiai hatásai

### 1. A francia paradoxon

A kardiovaszkuláris rendszer betegségei a fejlett országok vezető mortalitási okai közé tartoznak. Számos epidemiológiai kutatás bizonyította, hogy a teljes halálozás terén nincs különbség, míg a kardiovaszkuláris halálozás jóval kisebb mértékben fordul elő Franciaországban, mint más iparosodott nyugat európai országban. Ugyanakkor a telített zsírsavak és a vér koleszterin szintje magasabb, míg a dohányzás és a hipertónia hasonló prevalenciát mutat Franciaországban, mint a többi fejlett országban.

További epidemiológiai vizsgálatok egy J alakú kapcsolatot írtak le a kardiovaszkuláris mortalitás és az elfogyasztott alkohol mennyisége között. Ezen kutatások kimutatták azt is, hogy a rendszeres, de mértéktartó vörösbor fogyasztása (kevesebb, mint 10-20 g alkohol/nap) csökkenti a koronária betegség, a szívelégtelenség és a stroke rizikóját. Más vizsgálatok szerint a bor fogyasztása révén kedvezőbb kardiovaszkuláris hatások érhetők el, mint a többi alkohol tartalmú ital fogyasztása esetén. Ezen túlmenően az is bebizonyosodott, hogy a vörösbort fogyasztó mediterrán területeken élők mortalitási adatai jóval kedvezőbbek, mint Alsace-ban, egy fehérbor fogyasztó franciaországi régióban.

A vörösbor rendszeres, de mértéktartó fogyasztásából eredő kardiovaszkuláris rizikó csökkenésének jelenségét francia paradoxonnak nevezték el.

## **2. A vörösbor összetevői**

A kedvező kardiovaszkuláris hatások a vörösbor alkoholos és nem-alkoholos komponenseinek egyaránt köszönhetőek. A nem-alkoholos részt antocianinok és polifenolok alkotják. Az antocianinok, ahogy a delfidin és a malvidin a bor színéért felelős molekulák, míg a polifenolokat a kedvező kardiovaszkuláris hatások fő forrásának gondolják. A legpotensebb vörösborban lévő polifenolok, mint a rezveratrol, a katechin és a kvercetin széles körben vizsgált molekulák. A polifenolok fokozzák a nitrogén-monoxid (NO) termelődését, ugyanakkor csökkentik az LDL oxidációját, az LDL receptorok expresszióját, a trombociták aggregációját, valamint a proinflammatorikus eikozanoidok termelődését.

Alkoholmentes vörösborkivonatot (AFRW) legtöbbször állatkísérletek során használtak. Egy iszkémia-reperfúziós patkány kísérlet igazolta, hogy az AFRW fokozza a kamrafunkciót, és csökkenti a posztinfarktusos remodelláció mértékét. Egy másik vizsgálatban az AFRW fogyasztásának hatására csökkent a trombózis hajlam és az oxidatív stressz mértéke, míg egy humán kísérlet az LDL oxidációjának csökkenéséről számolt be.

Számos vizsgálat bizonyította, hogy az etanol is szerepet játszik a vörösbor kedvező kardiovaszkuláris hatásaiban. A vörösbor rendszeres fogyasztása során az etanol csökkenti a trombocita funkciót és egyes alvadási faktorok szintjét, ezek révén pedig kedvezően befolyásolja az alvadási folyamatokat. Emellett az alkohol emeli a szöveti plazminogén aktivátor szintjét, ezáltal fokozza a fibrinolízist. Az etanol fogyasztása során nő a HDL szintje és csökken az LDL koncentrációja, valamint fokozódik a vazodilatátor hatású endotél által termelt NO szintje.

## **3. A vörösbor és a főbb összetevőinek hemoreológiai hatásai**

Eddig mindössze néhány kutatás vizsgálta a vörösbor, a polifenolok és az etanol hemoreológiai paraméterekre kifejtett hatásait. *In vitro* vizsgálatok felfedték, hogy a vérhez adott etanol nem befolyásolja a hematokritot és a vér viszkozitást sem, ugyanakkor az alkohol fogyasztása dehidrációhoz, teljes vér és plazma viszkozitás fokozódásához vezet. A rendszeres, de mértéktartó alkohol fogyasztása csökkenti a plazma viszkozitását és a fibrinogén szintet is. Ezzel szemben, egy két hétig tartó vizsgálat azt találta, hogy a mértéktartó vörösbor és vodka fogyasztása nem befolyásolja a hematokritot, a vér viszkozitását és a fibrinogén szintet sem.

A hiányos és a bizonytalan hemoreológiai eredmények miatt a jelenlegi *in vitro* kísérletünkben a vörösbort és a főbb komponensek vörösvérsejt deformabilitásra és aggregációra kifejtett hatásait vizsgáltuk.

#### 4. Módszerek

A kísérletek során, egy 2002-es Merlot (Polgár Pincészet, Villány, Magyarország) vörösbort használtunk. Az alkoholmentes vörösborkivonat előállításához a bort vákuumdesztilláltuk az alkohol tartalom elpárolgásáig. Az alkohollal történt mérésekhez tiszta etanolt használtunk (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA).

A vörösborral és polifenolokkal elvégzett mérésekhez 13 önkéntestől vettünk vénás vért lítium heparinnal bélelt Vacutainer csövekbe. Az etanol kísérlethez 7 önkéntestől vettük EDTA-val antikoagulált vért.

A vérhez vörösbort kevertünk, aminek révén a minták alkohol koncentrációját 0,1, 0,3, és 1%-ra állítottuk be. A többi vérmintát a vörösborral azonos mennyiségű AFRW-vel, illetve fiziológiás sóval kezeltük. Az inkubációt követően meghatároztuk a mintákban lévő vörösvérsejtek deformabilitását és aggregációját.

Második vizsgálatunk során két különböző megközelítést alkalmaztunk, hogy megvizsgáljuk az etanol vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett hatásait: 1) etanolt adtunk a teljes vérhez (a végső etanol koncentráció 0, 0,25, 0,5, 1 és 2% volt), majd inkubációt követően elvégeztük a méréseket; 2) az etanolt a deformabilitás méréséhez használt nagy viszkozitású vivőanyaghoz adtuk (a végső etanol koncentráció 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 és 6% volt), majd kezeletlen vörösvérsejteket szuszpendáltunk fel, végül megmértük a mintákban lévő sejtek deformabilitását.

Az aggregációs méréseket saját plazmával vagy 70 kDa-os dextrán oldattal (3% foszfát pufferben oldva) 40%-ra beállított hematokrit mellett végeztük el. A vérminták hematokritjának beállítása után, etanolt adtunk a vérhez (az alkohol koncentrációja 0, 0,25, 0,5, 1 és 2% volt). Az inkubációt követően egyes mintákat lemértünk, míg más mintákat két alkalommal foszfát pufferrel mostuk, majd 3%-os, 70 kDa-os dextrán oldatot adtunk hozzájuk. A hematokritot visszaállítottuk 40%-ra, majd megmértük a mintákban lévő vörösvérsejtek aggregációját.

Egy harmadik kísérletben a vörösbort, az AFRW és az etanol oxidatív stressz melletti vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett hatásait vizsgáltuk. A vérmintákat vörösborral, AFRW-vel (a koncentráció 0,3% volt) vagy etanollal (a koncentráció 0, 0,25, 0,5, 1 és 2%) kezeltük, aztán a mintákhoz a szabadgyök generátor fenazin-metoszulfátot (PMS, Sigma) (végső koncentráció 500  $\mu$ M) kevertük. A mintákat két órán keresztül 37°C-on inkubáltuk, aztán deformabilitást mértünk. Egy másik kísérlet során a vért csak PMS-sel kezeltük, majd a sejteket a deformabilitás méréséhez használt etanollal kezelt vivőanyagba szuszpendáltuk fel.

Az etanol kezelést követően a vörösvérsejtek alakját DIC fénymikroszkóppal (BX50F modell; Olympus, Tokió, Japán) elemeztük.

Az elongációs index-nyírófeszültség adatokat a Lineweaver-Burke féle non-lineáris regresszió alapuló elemzésnek vetettük alá. Meghatároztuk a végtelen nyírófeszültséghez tartozó maximális EI-t ( $EI_{max}$ ) és a feléhez tartozó nyírófeszültséget ( $SS_{1/2}$ ) is. Az elemzést GraphPad Prism programmal végeztük el (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

## 5. A vörösvérsejt deformabilitás mérések eredményei

LORCA ektacitóméterrel mért eredményeink azt mutatták, hogy a vörösvérsejt deformabilitás a kontroll minták eredményéhez képest nem változott vörösbor és alkoholmentes vörösborkivonat kezelést követően. A Lineweaver-Burke non-lineáris regresszió alapuló analízis kimutatta, hogy a vörösbor és az AFRW kezelés nem befolyásolta sem az  $EI_{max}$ , sem az  $SS_{1/2}$ , sem pedig a két paraméter hányadosát.

A vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett etanol hatások az alkohol alkalmazásának körülményeitől függtek: 1) a teljes vérhez adva az etanol nem okozott deformabilitás változást, ezt a Lineweaver-Burke analízis is megerősítette; 2) a LORCA vivőanyagához adva az etanol dóziszfüggő módon, szignifikánsan fokozta a vörösvérsejt deformabilitást ( $p < 0,05$ ). Az  $EI_{max}$ , az  $SS_{1/2}$  és a két paraméter hányadosa szignifikáns módon csökkent az alkalmazott alkohol koncentrációjának függvényében ( $p < 0,05$ ).

## 6. Az oxidatív stressz kísérletek eredményei

A vörösbor és a főbb komponensek vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett hatásait a szabadgyök generátor fenazin-metoszulfát okozta oxidatív stressz mellett is meghatároztuk. Ahogy az várható volt, az 500  $\mu\text{M}$  PMS kezelés szignifikáns módon csökkentette ( $p < 0,05$ ) a mintákban lévő vörösvérsejtek deformabilitását.

Habár az AFRW előkezelés szignifikánsan kivédte ( $p < 0,05$ ) a PMS indukálta vörösvérsejt deformabilitás károsodást, a vörösbor ilyen jellegű hatást nem mutatott. A Lineweaver-Burke analízis megmutatta, hogy a csak PMS-sel kezelt mintákhoz képest az AFRW+PMS mintákban az  $EI_{max}$  nem változott, ezzel szemben az  $SS_{1/2}$  és az  $SS_{1/2} / EI_{max}$  hányados szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ). Másrészt a vörösbor+PMS mintákban a csak PMS-sel kezelt mintákhoz képest az  $EI_{max}$ , az  $SS_{1/2}$  és a hányados nem mutatott változást.

Az etanol okozta deformabilitás változás mértéke ismét a különböző alkohol kezelések függvénye volt. Amikor a sejteket alkohollal és PMS-sel kezeltük, majd két órán keresztül inkubáltuk a mintákat, a vörösvérsejt deformabilitás szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ) a csak PMS-sel kezelt mintákhoz képest. Az  $EI_{max}$ -ot az etanol kezelés nem befolyásolta, míg az  $SS_{1/2}$  és a  $SS_{1/2} / EI_{max}$  hányados szignifikánsan növekedett ( $p < 0,05$ ) a csak PMS-sel kezelt minták értékeihez képest.

Ezzel szemben, amikor a PMS-sel kezelt sejteket az alkoholt tartalmazó vivőanyagba szuszpendáltuk fel, a már károsodott vörösvérsejtek deformabilitása szignifikánsan javult ( $p < 0,05$ ). A Lineweaver-Burke analízis megmutatta, hogy az  $EI_{max}$  nem változott, míg az  $SS_{1/2}$  és az  $SS_{1/2} / EI_{max}$  hányados szignifikánsan alacsonyabbnak ( $p < 0,05$ ) bizonyult.

## 7. Az aggregációs kísérletek eredményei

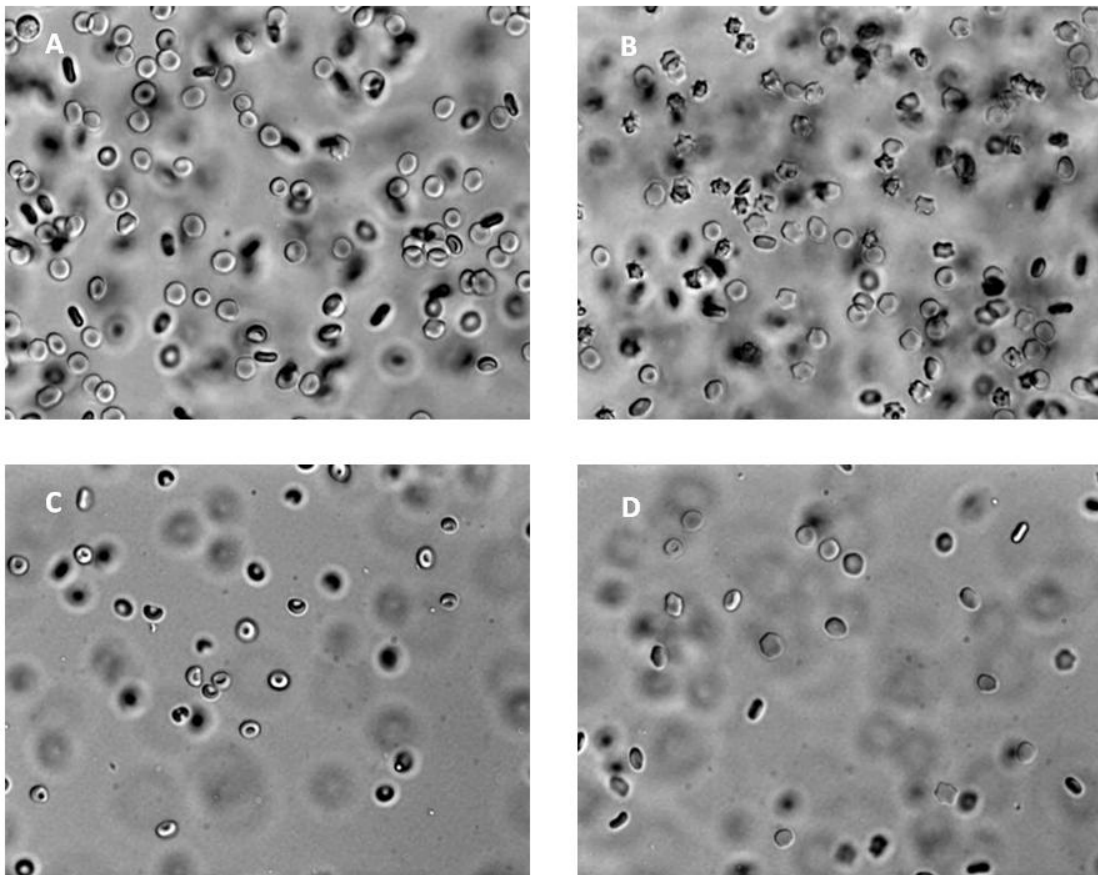
A vörösbor és az AFRW kezelés koncentráció függő módon csökkentette a vörösvérsejt aggregációt. A Myrenne aggregométer M és M1 paraméterei már 0,1%-os koncentrációk esetén is szignifikáns aggregáció csökkenést ( $p < 0,05$ ) mutattak. Az AFRW kezeléssel szemben a vörösbor hatására tendenciózusan erősebb aggregáció gátló hatás jelentkezett, a különbség a két anyag között az 1%-os koncentrációk esetében szignifikánssá ( $p < 0,05$ ) vált.

A LORCA aggregációs indexe a legmagasabb koncentrációjú minták esetén megerősítette, hogy az AFRW-vel összehasonlítva a vörösbor szignifikánsan nagyobb ( $p < 0,05$ ) aggregáció csökkenést okoz. A LORCA küszöbfeszültsége a Myrenne paramétereirel teljes azonos változásokat mutatott.

Az etanol kezelés - kezdve a 0,25%-os koncentrációjú mintákkal - a plazmában és a 3%-os, 70 kDa-os dextran oldatban mért vörösvérsejt aggregációt is koncentráció függő módon, szignifikánsan csökkentette ( $p < 0,05$ ). Az aggregométer a 2%-os etanol koncentrációjú minták esetén már nem tudott vörösvérsejt aggregációt mérni.

## 8. A sejtek mikroszkópos elemzése

A DIC fénymikroszkóppal elvégzett morfológiai analízis megmutatta, hogy a foszfát pufferbe helyezett diszkociták (bikonkáv alakú sejtek) (1A ábra), echinocitákká alakulnak (sejtfelszíni nyúlványokkal rendelkező vörösvérsejtek) 2%-os etanol tartalom hatására (1B ábra). Kiderült az is, hogy míg a nagy viszkozitású LORCA vivőanyag enyhe sztomatocita (csésze alakú vörösvérsejtek) irányú transzformációt indukál (1C ábra), addig a vivőanyaghoz kevert 2%-os etanol mellett a vörösvérsejtek megőrzik bikonkáv alakjukat (1D ábra).



**1. ábra:** DIC fénymikroszkóppal vizsgált vörösvérsejtek. **A)** A foszfát pufferbe helyezett kezeletlen vörösvérsejtek bikonkáv alakot mutatnak. **B)** Echinociták a 2%-os etanol koncentrációjú foszfát pufferben. **C)** Sztomatociták a LORCA nagy viszkozitású vivőanyagában (dextrán oldat). **D)** A 2%-os etanol tartamú dextrán oldatban a vörösvérsejtek megőrzik a normális, bikonkáv alakjukat.

## 9. Diskusszió

Ezen *in vitro* kísérletek során a vörösbőr és a főbb komponensek LORCA ektacitóméterrel mérhető vörösvérsejt deformabilitásra, illetve Myrenne és LORCA aggregométerrel meghatározható vörösvérsejt aggregációra kifejtett hatásait vizsgáltuk.

Eredményeink megmutatták, hogy a vörösbőr és az AFRW vérhez történő keverése nem változtatja meg, míg az etanollal történő kezelés fokozza a vörösvérsejtek deformabilitását. Ez a deformabilitás javulás akkor jelentkezett, amikor az alkoholt az ektacitóméter nagy viszkozitású vivőanyagához adtuk. Amikor viszont a vérsejtekkel együtt inkubáltuk az etanolt, majd az etanol-vér elegyet szuszpendáltuk fel a vivőanyagba, a deformabilitás változás elmaradt. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy az etanol indukálta deformabilitás fokozódás reverzibilis folyamat eredménye, és az etanol fizikai jelenléte szükséges hozzá. A Lineweaver-Burke analízis  $SS_{1/2}$  és  $SS_{1/2} / EI_{max}$  hányadosa megmutatta, hogy a legnagyobb deformabilitás fokozódás 4 és 5%-os etanol koncentráció esetén valósul meg. A 6%-os minták vörösvérsejt deformabilitása szignifikánsan rosszabb volt, a 3%-os mintákéhoz hasonlított. Ezen eredmények kétfázisú etanol hatást valószínűsítene; vagyis az etanol koncentrációjának függvényében a deformabilitás kezdetben fokozódik, majd csökken.

Az irodalomban leírt általános megegyezés szerint négy faktor (a sejt morfológiai és geometriai alakja, valamint a membrán és a citoplazma viszkozitása) befolyásolja a vörösvérsejt deformabilitást. Az etanol hatására a vörösvérsejtek echinocitákká alakulnak, a dextránhoz adott etanol keverékbe felszuszpendált sejtek azonban megőrizték bikonkáv alakjukat. Az alkohol fogyasztása fokozza a plazma ozmolalitását, így csökkenti a sejt térfogatát, ami a felület-térfogat arány és a citoplazma viszkozitásának fokozódásához vezet. A felület-térfogat arányának növekedése fokozza a deformabilitást, míg a nagyobb belső viszkozitás ez ellen hat. Mivel a sejteket izotóniás körülmények között tartottuk, feltételezhetjük, hogy az etanol a sejtmembrán és a hozzá kapcsolódó citoszkeleton mechanikai integritását befolyásolja.

Az etanol rendelkezik egy poláris, hidroxil csoporttal, amivel a sejten belüli vizes közegben és a külső glikokalixban is oldódni képes. Ezzel szemben az apoláris rész a membrán lipid rétegéhez tud kapcsolódni, ezáltal az etanol a membrán fluiditását növelni képes, ami viszont kis mértékben befolyásolja csak a deformabilitását. Ezért azt feltételezzük, hogy az etanol a citoszkeleton organizációját és kapcsolatait (spektrin-aktin kötődés, transzmembrán fehérjék és citoszkeleton kapcsolata) reverzibilis módon befolyásolja.

A vörösbőr, az AFRW és az etanol indukálta vörösvérsejt deformabilitás változást a fenazin-metoszulfát generálta oxidatív stressz jelenlétében is vizsgáltuk. A PMS egy jól ismert oxigén szabadgyök generátor, ami lipid peroxidációt okoz, illetve a membrán fehérjék és a citoszkeleton strukturális megváltoztatása révén a membrán rigiditásának fokozódásához, így a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenéséhez vezet.

Kísérleteink során az alkoholmentes vörösborkivonat előkezelés szignifikánsan kivédte a PMS generálta vörösvérsejt deformabilitás csökkenést, így megvédte a sejteket az oxidatív károsodástól. Eredményeink megerősítene korábbi humán vizsgálatokat, ahol az AFRW fogyasztását követően a vérplazma antioxidáns kapacitásának fokozódását találták. Habár az AFRW csak részben védte ki az oxidatív stressz vörösvérsejtek roncsoló hatását, a vörösbőr előkezelésnél védő hatást nem tudtunk kimutatni.



A vörösborral elvégzett méréseink eredményét az *in vitro* etanol kísérlet is magyarázhatja. Amikor az etanollal és a PMS-sel kezelt vért alkoholmentes LORCA vivőanyagban mértük le, az etanol koncentráció függő módon fokozta az oxidatív stressz hatását. Ezen eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a vörösbor alkoholtartalma a polifenolok védő hatását gyengíti. Másrészt az etanol és a PMS kísérlet azt is megmutatta, hogy ha az etanolt a LORCA vivőanyagába keverjük, akkor az oxidatíván károsodott vörösvérsejtek deformabilitása javítható. Feltételezzük, hogy az etanol ebben az esetben is a normális vörösvérsejteken kifejtett hatásokhoz hasonló módon befolyásolja a deformabilitást.

A vörösvérsejt aggregációt vörösborral és AFRW-vel kezelt vérmintákban Myrenne és LORCA aggregométerrel is mértünk. Eredményül koncentráció függő aggregáció csökkenést kaptunk, valamint az is bebizonyosodott, hogy a vörösbor nagyobb aggregáció csökkenést okoz, mint az AFRW. Ez a csökkenés valószínűleg a vörösvérsejtek membránjában és a plazma összetevőiben - főleg a plazmafehérjékben - létrejött változások következménye. A polifenolok alacsony vízdoldhatóságuk következtében képesek a plazmafehérjékhez kötődni. A „bridging” elmélet értelmében, a fenol-protein interakciók megváltoztathatják a fehérjék tulajdonságait, ami a sejtek közötti fehérjék által létrehozott keresztkötések számának csökkenéséhez, így a vörösvérsejt aggregáció mérséklődéséhez vezet.

Az etanol hatására a plazmában és a 3%-os, 70 kDa-os dextrans oldatban mért vörösvérsejt aggregáció is csökkenést mutatott. A kísérlet arra is választ adott, miért a vörösbor és nem az AFRW mutatott nagyobb aggregáció csökkenést. Az aggregáció csökkenése részben az etanol indukálta echinocitás transzformációnak, részben pedig a plazmafehérjék megváltoztatásának köszönhető. A csökkent vörösvérsejt deformabilitás az aggregáció csökkenését okozza, azonban kísérleteinkben fokozott deformabilitást mértünk. Ezért az etanol indukálta aggregáció csökkenésére a sejtek glikokalix rétegében bekövetkező változás lehet a legvalószínűbb magyarázat. A „depletion layer” modell alapján a molekulák, és sejtek közti deplációs interakció mértéke attól függ, hogy a makromolekula milyen mélyen tud a glikokalixba süllyedni; a fokozott penetráció csökkenti az aggregációt. Fontos hangsúlyozni, hogy a glikokalixban bekövetkező változások irreverzibilisek, mert habár a sejteket etanollal kezeltük, a méréseket alkoholmentes dextransban végeztük el.

## 10. Konklúzió

Vizsgálataink bebizonyították, hogy az AFRW megvédi a vörösvérsejteket az oxidatív stressz okozta károsodástól, míg a vörösbornak ilyen hatása nincs. Mind a vörösbor, mind az AFRW csökkenti a vörösvérsejt aggregációt, de a vörösbor hatékonyabb gátlószernek bizonyult. Emellett az etanol reverzibilisen fokozza a vörösvérsejtek deformabilitást, és irreverzibilis módon csökkenti az aggregációt. Ugyanakkor az etanol növeli az oxidatív stressz indukálta vörösvérsejt deformabilitás károsodás mértékét, és fokozza a korábban sérült sejtek deformabilitását.

Fontos hangsúlyozni, hogy a mértéktartó vörösbor fogyasztása során észlelt kardiovaszkuláris rizikócsökkenés hátterében a vörösbor alkotóelemeinek kombinált, kedvező hatása állhat. Véleményünk szerint a disszertációban közölt kedvező hemoreológiai változások növelik a szöveti perfúziót, és hozzájárulhatnak a vörösbor mértéktartó fogyasztása során észlelt kedvező kardiovaszkuláris hatásokhoz.

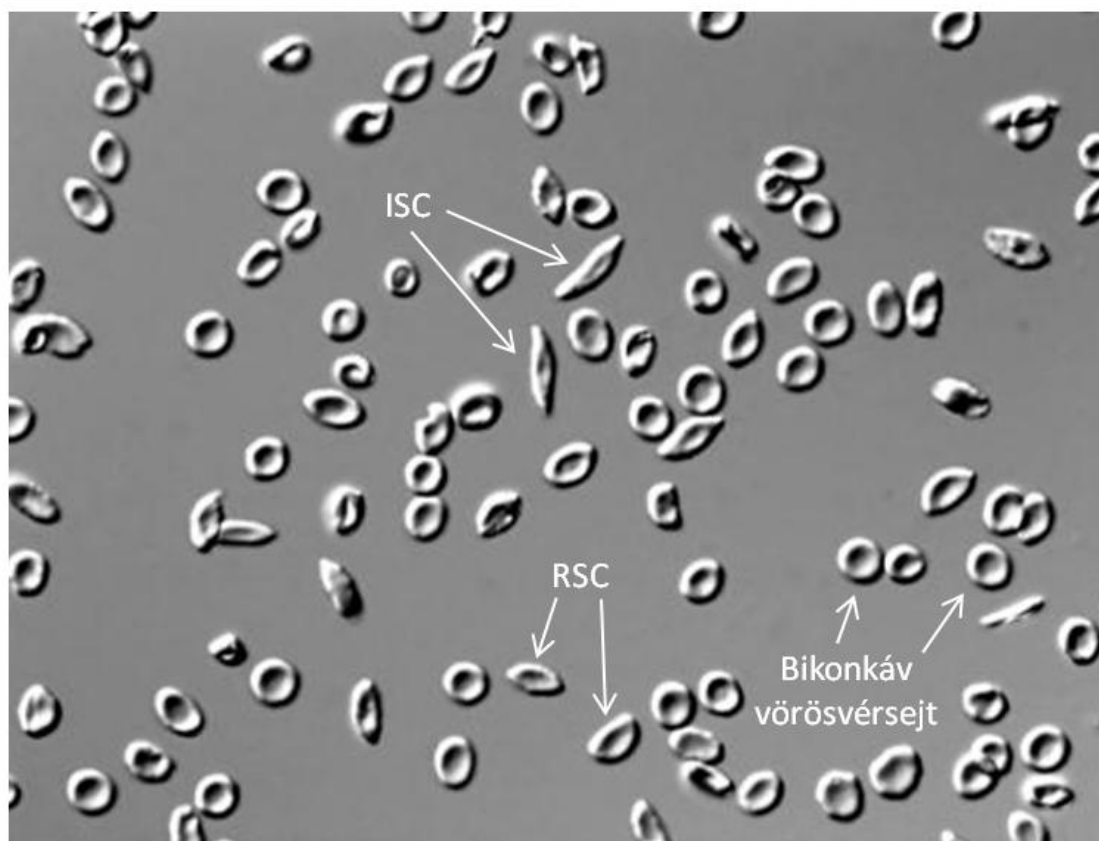
## V. Vörösvérsejtek fényszórásának elemzése

### 1. Bevezetés

Mechanikai erők hatására a vörösvérsejtek deformálódnak, ez a tulajdonság elengedhetetlen ahhoz, hogy a sejtek átjussanak a kapillárisokon. Patológiás vörösvérsejt deformabilitással különböző betegségek esetén találkozhatunk. Az egyik legjellemzőbb ilyen kórkép a sarlósejtes anémia (SCD). Ezt a genetikai betegséget a  $\beta$ -globin lánc 6. aminosavjának cseréje okozza, aminek hatására egy hibás hemoglobin; a hemoglobin S (HbSS) keletkezik.

Alacsony oxigén tenziójú körülmények között a HbSS polimerizálódik, a sejt belső viszkozitása fokozódik, ami a sejt deformabilitásának csökkenéséhez és a tipikus torz, megnyújtott sejtalak megjelenéséhez vezet. Az ilyen betegségben szenvedő betegek vérében jól deformálódó, közepesen rigid (reverzibilis sarlósejt (RSC)) és nem deformálódó (irreverzibilis sarlósejt (ISC)) vörösvérsejtek egyaránt megtalálhatóak.

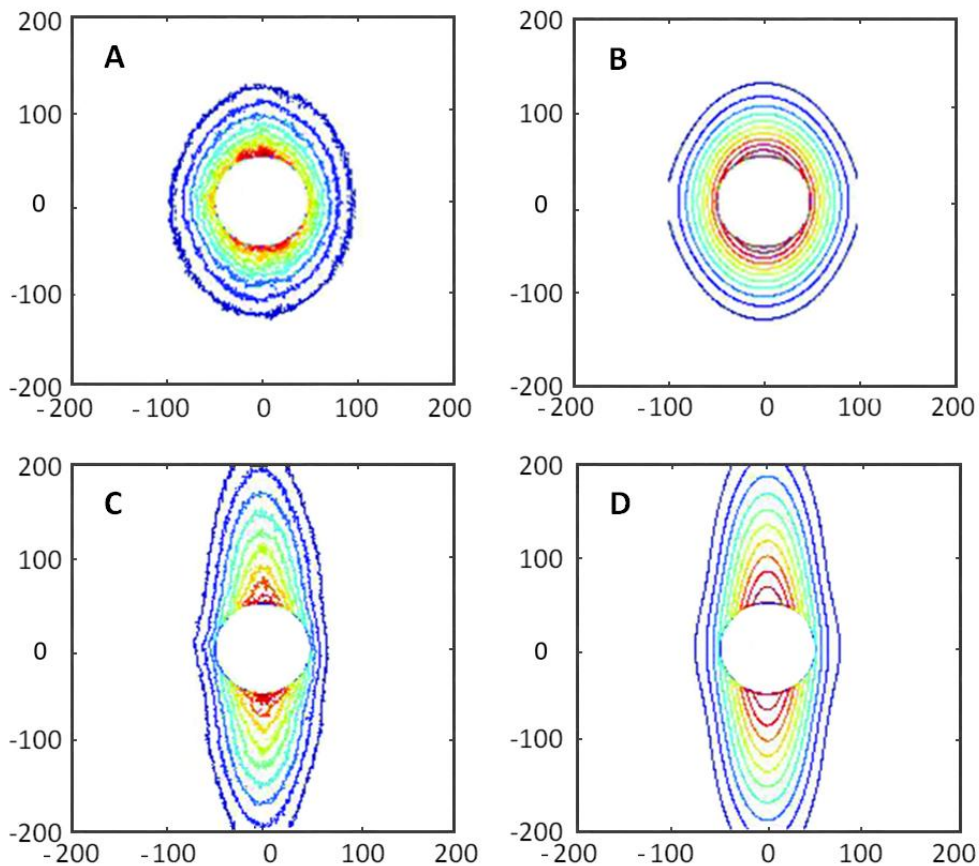
Mikroszkópos vizsgálat esetén az irreverzibilis sarlósejteket könnyű felismerni, mert ezen sejtek hossza kétszerese a szélességüknek. (2. ábra). A rigid sarlósejtek törékenyek, ezért a folyamatos hemolízis miatt anémia jön létre. Emellett a sarlósejtek más SCD tünetekért is felelősek; beleértve a kapillárisok elzáródása miatt fellépő mellkasi fájdalom szindrómát, a különböző szervek infarktuszát és a tüdők fokozott vaszkuláris ellenállást.



**2. ábra:** Különböző vörösvérsejt alakok (bikonkáv sejtek, reverzibilis (RSC) és irreverzibilis (ISC) sarlósejtek) sarlósejtes anémiában szenvedő beteg vérében.

## 2. A diffrakciós mintázat elemzése

Az ektacitometriás technika korábban már részletes leírásra került. A technikával kapcsolatban ki kell emelni, hogy a műszer a nyírófeszültségnek kitett vörösvérsejtek által megtört lézertény diffrakciós mintázatát elemzi. Alacsony nyírófeszültségeken a vörösvérsejtek diffrakciós mintázata kör alakot mutat, míg a növekedő nyíró erők hatására a sejtek deformálódni kezdenek, ellipszis alakúvá válnak, ezáltal ellipszis alakú diffrakciós mintázatot mutatnak (3. ábra).

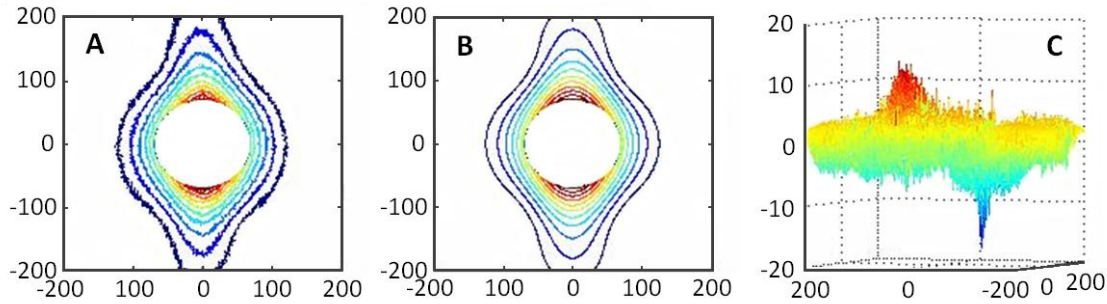


**3. ábra:** 100%-ban bikonkáv vörösvérsejteket tartalmazó minta diffrakciós képének intenzitás kontúrjai. **A)** Alacsony nyírófeszültségen (0,5 Pa) létrejött diffrakciós kép. **B)** Ugyanerre a diffrakciós képre alkalmazott Bessel függvény használata során kivitelezett illesztés eredménye. **C)** Magas nyírófeszültségen (50 Pa) létrejött diffrakciós kép. **D)** Ugyanerre a diffrakciós képre alkalmazott anomalous illesztés eredménye.

Az elemzés alatt az ektacitométer a minta mérése során létrejött lézer intenzitás mintázatot egy adott magasságban elemzési, és az így létrejött diffrakciós képre egy ellipszist illeszt, aminek „a” és „b” átlójából az összes alkalmazott nyírófeszültségen kiszámolható az elongációs index;  $EI = (a - b) / (a + b)$ .

Sarlósejtes anémiában szenvedő betegek vérében normálisan és rosszul deformálódó sejtek egyaránt megtalálhatóak. Az ilyen vér mérése során a diffrakciós kép a rigid, rosszul deformálódó és a normálisan deformálódó sejtek diffrakciós képeinek összeadódása révén keletkezik.

Növekvő nyírófeszültség hatására a normális sejtek fokozatosan deformálódni kezdenek, és ellipszis alakú diffrakciós mintázatot mutatnak. Ezzel szemben a rosszul deformálódó sejtek merev forgása lényegében körkörös diffrakciós képet eredményez. Ennek eredményeként a két különböző sejtípus kombinált diffrakciós képe leginkább egy kereszt alakra emlékeztető mintázatot fog mutatni (4. ábra). Alkalmazva a szokásos ellipszisillesztést erre a torzult, középső részén kidudorodó ellipszisre hamis elongációs értékeket kapunk.



**4. ábra:** 70% normális + 30% rigid vörösvérsejtet tartalmazó minta diffrakciós képének intenzitás kontúrjai. **A)** Magas nyírófeszültségen (50 Pa) létrejött diffrakciós kép. **B)** A diffrakciós képre alkalmazott legpontosabb illesztés. **C)** A két kép közötti digitális különbség. A mintázat középső részén lévő kiboltosulást a mintában lévő rigid sejtek jelenléte okozza.

Ezen vizsgálat során kidolgoztunk egy új módszert, amivel egy normális és rigid sejtekkel létrehozott sarlósejtes modellt is lehetséges elemezni. A módszer a globális görbeillesztés technikáján alapszik, aminek értelmében a különböző nyírófeszültségeken létrejött diffrakciós mintázatok egyszerre kerülnek elemzésre.

### 3. Elméleti háttér

A vörösvérsejteken megtörő lézertény által egy távoli ernyőn kirajzolt diffrakciós kép pontjai  $x$  és  $y$  távolságra esnek a merőlegesen beeső lézerténytől, valamint  $z$  távolságra vannak a mintában lévő sejtektől. Ezek alapján a diffrakciós kép pontjainak intenzitása leírható a következő egyenlettel:

$$I(x, y, z) = \left( \frac{I_0}{k^2 r^2} \right) |S(x, y, z)|^2 \quad 1. \text{ egyenlet}$$

$I_0$  a lézer alapintenzitása,  $r = (x^2 + y^2 + z^2)^{1/2}$  a képen lévő valamennyi pont  $(x, y, z)$  véresejtektől való távolsága, és  $k$  a lézertény levegőben mért hullámvektora.

A szóródási kép  $S(x, y, z)$  és a diffrakciós mintázat a nyírófeszültség függvényében változó sejtek alakjától függ. Nyírás nélkül a vörösvérsejtek bikonkáv alakúak. Alacsony nyírófeszültség mellett a normális sejtek bikonkáv alakból állandó vastagságú ellipszissé válnak (nyújtott jégkoronghoz hasonlítanak), ahol a két átmérő  $a$ -nak és  $b$ -nek, míg a vastagság  $c$ -nek adódik. Ebben az esetben a szóródási képet az első fokú Bessel függvénnyel lehet leírni.

Magas nyírófeszültségen a vörösvérsejtet nem tekinthetjük többé azonos vastagságú korongnak, hanem egy olyan ellipszisnek, aminek átmérői a következők:  $a > b > c$ . Ebben az esetben a szóródási mintázatot anomalous diffrakciós mintázatként lehet elemezni.

Azonban, mikor a lézerefény rigid és deformálódó sejteket tartalmazó mintán halad át, a kialakuló diffrakciós kép a szórt fénycsoporthullámok inkohérens összeadódásából jön létre. A jelen vizsgálatban ezen összetett diffrakciós képek elemzése során a legkisebb négyzetek elve alapján a teljes diffrakciós mintázatra végeztünk illesztést.

#### 4. A diffrakciós mintázatok globális, számítógéppel történő elemzése

*Alacsony nyírófeszültségen* a normális és rigid sejteket változatlan vastagságú korongoknak tekintettük, majd elvégeztük a Bessel függvény alapján történő illesztést. Ebben az esetben hét változtatható paramétert tartalmaz az egyenlet:

- q1 - a normális vörösvérsejtek koncentrációja
- q2 - a normális vörösvérsejtek átlagos átmérője
- q3 - a normális vörösvérsejtek átlóinak hányadosa
- q4 - rigid vörösvérsejtek koncentrációja
- q5 - rigid vörösvérsejtek átlagos átmérője
- q6 - a rigid vörösvérsejtek átlóinak hányadosa
- q7 - a detektor által észlelt háttér intenzitás

A vörösvérsejtek térfogata ( $\sim 100 \mu\text{m}^3$ ) és felülete ( $\sim 140 \mu\text{m}^2$ ) alakváltozás során nem változik. A sejtek vastagsága pedig megadható a sejtek excentrikusságának és átlagos átmérőjének ismeretében.

*Nagy nyírófeszültségen* a deformálódó sejtek ellipszis alakot vesznek fel, míg a rigid sejtek korong alakúak maradnak. Ezért ebben az esetben a diffrakciós mintázat elemzéshez a Bessel és az anomalous függvényekből létrehozott kevert illesztést alkalmaztunk, ahol a fény intenzitását nemcsak a sejtek rövid és hosszú átlói, hanem a nyírófeszültség változása révén a sejtek változó vastagsága is meghatározza.

Alapvetően a fenti hét paraméterből öt állandó marad a teljes mérés során. A normális sejtek koncentrációja (q1) mellett, a rigid sejtek koncentrációja (q4), átlagos átmérője (q5) és az átlók hányadosa (q6), valamint a detektor által észlelt háttér intenzitás (q7) is állandó marad a nyírófeszültség változásának ellenére is. Ezen feltételek alkalmazása esetén csak a normális sejtek átmérője (q2) és átlóinak hányadosa (q3) változott a mérés során alkalmazott nyírófeszültségek hatására. Ezek után az *összes alkalmazott nyírófeszültség* tekintetében *egyszerre* végeztük el a *globális illesztést*, alkalmazva azt az elvet, hogy a lemért és a számított intenzitáskülönbség minimális legyen. Az összes nyírófeszültségre alkalmazott globális illesztés egyenlete a következőképpen alakult:

$$\text{Globális illesztés} = \sum_{j=1}^9 \sum_{\substack{\text{összes pixel} \\ (x,y)}} \left[ I_{\text{megmért}}^j(x,y) - I_{\text{számított}}^j(x,y) \right]^2 \quad 2. \text{ egyenlet}$$

Csak a fent említett két paraméter - (q2) és (q3) - változott a nyírófeszültség változásának függvényében. A többi öt paramétert a számítógépes elemzés során a paraméterek optimumán rögzítettük. Valójában, ezzel a módszerrel a kilenc nyírófeszültséghez tartozó diffrakciós mintázatok illesztése során egyidejűleg 23 paramétert dolgozott fel a program.

#### 4. Módszerek

A kísérletek során egészséges, felnőtt önkéntesektől EDTA-val antikoagulált vénás vért vettünk Vacutainer csövekbe. A vérmintákat 1400 g-n 5 percig centrifugáltuk. A plazmát és a fehérvérsejtek rétegét eltávolítottuk. A visszamaradó vörösvérsejteket két alkalommal is foszfát pufferrel (PBS, 290 mOsm/kg, pH = 7,4) mostuk.

A nem deformálódó, rigid vörösvérsejteket tartalmazó minták elkészítése során a PBS-sel hígított vörösvérsejt szuszpenzióhoz óvatosan azonos mennyiségű 1%-os glutáraldehid (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) oldatot adtunk. A mintát 60 percen keresztül szobahőmérsékleten kevertük, majd PBS-sel mostuk, hogy a még reaktív glutáraldehidet eltávolítsuk, végül PBS-sel visszahígítottuk a sejteket.

A kísérletekhez normális és rigid vörösvérsejtekből álló mintákat hoztunk létre úgy, hogy a rigid sejtek koncentrációja 0, 5, 10, 20, 30 és 50% volt. A normális vörösvérsejteket tartalmazó szuszpenzióban lévő sejtek koncentrációját a rigid sejteket tartalmazó szuszpenzió sejttségéhez igazítottuk. Ehhez a művelethez egy automata sejtsszámláló (Micros, Horiba-ABX, Irvine, CA, USA) berendezést használtunk.

A deformálódó és rigid sejteket tartalmazó minták vörösvérsejt deformabilitását LORCA ektacitométerrel mértük, majd a mérés során létrejött diffrakciós mintázatok elemzésére a fent említett globális illesztést alkalmaztuk. A méréshez a különböző sejt mintákat hozzáadtuk a LORCA 70 kDa-os nagy viszkozitású vivőanyagához (Sigma, 297 mOsm/kg,  $\eta=31,4$  mPa.s PBS-ben oldva), majd az így létrejött szuszpenziókat jól összekevertük.

A mérések során a diffrakciós mintázatok egy video kamera segítségével rögzítettük, majd digitálisan tároltuk. A diffrakciós kép középső része a diffrakciót nem szenvedő lézerefényt is tartalmazza, ami elvakítaná a kamerát, ezért az ernyőképen egy nem átlátszó pont ezen direkt sugarakat fizikailag blokkolja. Ennek hatására jön létre a diffrakciós kép közepén látható „lyuk” (3. és 4. ábra). A minták feldolgozása során, nyírófeszültségenként 10 darab diffrakciós kép digitális átlagán végeztük el a globális illesztést.

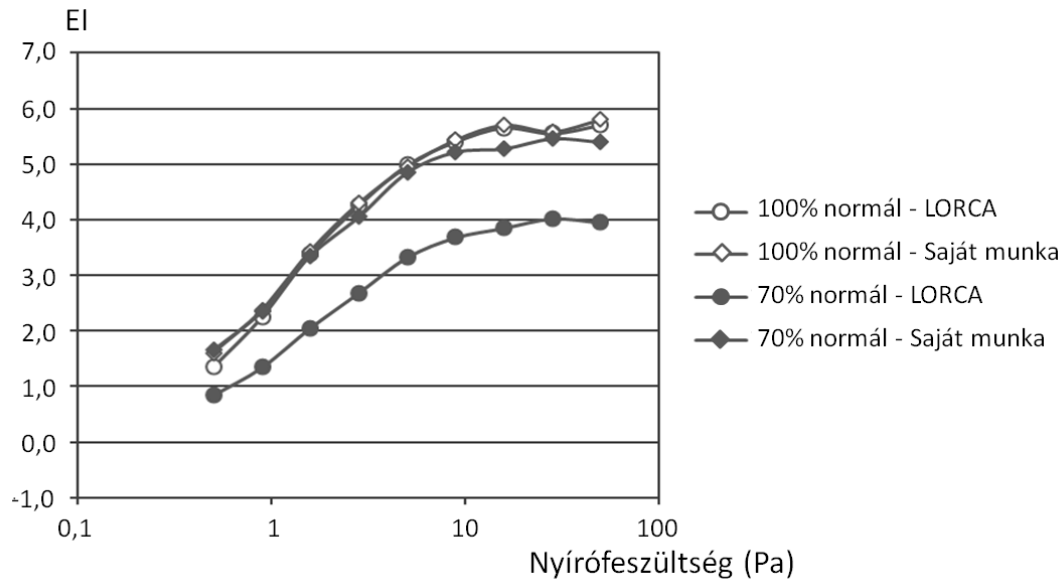
#### 5. Eredmények és Diskusszió

A vörösvérsejt deformabilitás mérése során kilenc különböző nyírófeszültségen - 0,5 Pa és 50 Pa között - történt globális illesztés a különböző vörösvérsejt minták által generált diffrakciós mintázatokra. Jelen vizsgálatunkban normális vörösvérsejtek (0% rigid sejt) által generált diffrakciós képek közül a legalacsonyabb és a legmagasabb nyírófeszültségen létrejövő mintázatot mutattuk be (3. ábra). A hét, illesztést befolyásoló paraméter ( $q_i$ ) segítségével a kilenc nyírófeszültségen egyidejűleg csökkentettük a mért és a számított diffrakciós mintázatok közti különbséget.

A 30% rigid és 70% normális vörösvérsejtet tartalmazó minta magas nyírófeszültségen mért diffrakciós képét szintén bemutattuk (4. ábra).

A rigid és a normális sejteket tartalmazó keverék minta ektacitométerrel mért torzult ellipszist mutató diffrakciós képeit nagy pontossággal lehet a módszer segítségével reprodukálni. A két különböző sejt populáció LORCA által mért és a program által számolt elongációs indexeket összevetettük (5. ábra).

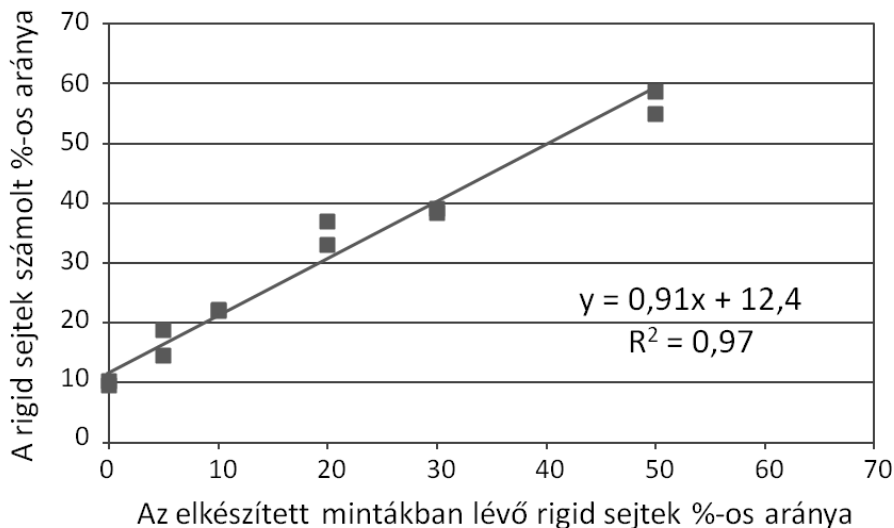
A normális sejtek estében a LORCA által rutinszerűen alkalmazott ellipszisillesztés eredményeként létrejött elongációs indexek és a globális illesztés révén számolt EI értékek azonos eredményt mutattak. A normális és rigid sejteket tartalmazó minta esetén a globális illesztés pontos EI értékeket adott meg a normális sejtek tekintetében. Ezzel szemben, a LORCA ellipszis illesztése során keletkező EI görbe a mintában lévő rigid sejteknek köszönhetően lejjebb tolódott.



**5. ábra:** A LORCA és a globális illesztés során kiszámolt Nyírófeszültség-Elongációs Index (EI) adatpontok. Az illesztések összehasonlítása során két különböző vérmintát használtunk fel: (1) a 100%-ban normális sejteket tartalmazó minták adatpontjai esetén a LORCA ellipszis illesztése és a globális illesztés gyakorlatilag azonos EI értékeket adott, (2) a 70%-ban normális és 30%-ban rigid sejteket tartalmazó minták esetén a globális illesztés még a rigid sejtek jelenléte esetén is pontos EI értékeket mutatott a normális sejtek tekintetében. Ezzel szemben, a LORCA ellipszis illesztése jelentősen rosszabb deformabilitást jelzett.

Kísérleteink során vérmintákat készítettünk, amik különböző koncentrációban rigid sejteket (0 és 50% között) tartalmaztak. Az illesztés során felhasznált ( $q_1$ ) és ( $q_4$ ) paraméterek a normális és a rigid sejtek koncentrációját, míg a  $q_4/(q_1 + q_4)$  hányados a minták rigid sejtjeinek százalékos arányát adja meg. A globális illesztéssel meghatározott rigid sejtek koncentrációja és az elkészített vérmintákban lévő rigid sejtek koncentrációja között erős korrelációt találtunk (6. ábra). Minden egyes koncentráció esetén két különböző adatsort használtunk fel. Ezeket a LORCA videokamerájának különböző apertúra beállításai mellett mértük le. Az eredmények reprodukálhatósága jól látható az ábrán.

Habár az adatpontokra illesztett egyenes meredeksége közel egy, a diffrakciót nem szenvedett lézerefény szóródásának köszönhetően az y tengely metszéspontja nem nullánál van. Amennyiben szükséges, a globális illesztéshez használt diffrakciós mintázat középső területéből egy nagyobb rész elhagyása révén, az egyenes y tengelyi metszéspontja közelebb kerülhet a nullához.



**6. ábra:** A rigid sejtek számolt arányát az elkészített rigid sejt frakciók függvényében mutatja az ábra. Az adatpontokra egyenes vonal illeszthető. Az egyenes y tengellyel való metszéspontja nem nulla, köszönhetően egyéb, a rigid sejteken kívüli fényszórást okozó tényezőknek.

## 6. A sarlósejtes vér jövőbeni lehetséges analízise

Sarlósejtes vérben a vörösvérsejtek deformabilitása folytonos megoszlást mutat, míg ezen kísérlet során csak két különböző sejtpopulációt használtunk. Számos vizsgálat bizonyította, hogy a vörösvérsejtek deformabilitásának ismerete klinikai relevanciával bír. A keringő irreverzibilis sarlósejtek száma erős korrelációt mutat a hemolízis mértékével. Másrészt a rigid sejtek számának ismerete információt nyújthat az alkalmazott terápia sikerességéről, és előre jelezheti a mellkasi fájdalom szindrómák kialakulását.

Mindazonáltal, a sarlósejtes vérrel elvégzett előzetes vizsgálataink azt mutatták, hogy a globális görbeillesztés technikája pontosan képes meghatározni a sarlósejtes vérmintában lévő jól deformálódó sejtek elongációs index értékét. Természetesen emellett az is fontos lenne, ha ez a technika meg tudná határozni a vérmintában lévő rigid, vagy az alig deformálódó sarlósejtek arányát is.

## 7. Konklúzió

A Bessel függvények és az anomalous szóródási mintázatok kombinációjának egyidejű használata során, a teljes nyírófeszültség tartományban, még a rigid, nem deformálódó sejtek jelenléte esetén is, meghatározható a mintában lévő vörösvérsejtek elongációs indexe (5. ábra). Ráadásul, a globális görbeillesztés segítségével meghatározható a mintában lévő nem deformálódó sejtek aránya a vérmintában (6. ábra).

Feltételezésünk szerint, ez a technika alkalmas lehet a normális sejtek elongációs indexeinek és a nem deformálódó, rigid sejtek arányának meghatározására sarlósejtes anémiában szenvedő betegek esetén is.



## VI. A disszertáció tudományos eredményei

### 1. A vörösbőr, az alkoholmentes vörösborkivonat és az etanol hatásai

- [1] *In vitro* kísérleteink megmutatták, hogy a vörösbőr és az alkoholmentes vörösborkivonat is csökkenti a plazmában mért vörösvérsejt aggregációt. Emellett az is bebizonyosodott, hogy a vörösbőr vált ki nagyobb gátló hatást.
- [2] Az etanol reverzibilisen fokozza a vörösvérsejt deformabilitást, és irreverzibilisen csökkenti a vörösvérsejt aggregációt.
- [3] Eredményeink felfedték, hogy az alkoholmentes vörösborkivonat megvédi a vörösvérsejteket az oxidatív stressz okozta deformabilitás károsodástól.
- [4] Az alkohol fokozza az oxidatív stressz indukálta vörösvérsejt deformabilitás károsodást, míg a korábban károsodott sejtek deformabilitását javítani képes.

### 2. Ektacitóméterrel vizsgált vörösvérsejtek fényszórásának elemzése

- [1] Kifejlesztettünk egy új elemzési technikát, aminek segítségével, nagy pontossággal elemezhetőek az ektacitóméterrel történő mérés során létrejövő diffrakciós mintázatok.
- [2] A szóródási mintázatok elemzésénél használt Bessel és anomalous függvények kombinációja a nem deformálódó sejtek jelenléte esetén is pontosan képes meghatározni a vérmintában lévő normálisan deformálódó sejtek elongációs indexeit.
- [3] A globális illesztést végző program a mintában lévő nem deformálódó vörösvérsejtek koncentrációját is képes meghatározni.

## VII. Rövidítések jegyzéke

AFRW	alkoholmentes vörösborkivonat
EDTA	etiléndiamine-tetraecetsav
EI	elongációs index, a LORCA ektacitóméter paramétere
EI <sub>max</sub>	az elongációs index végtelen nyírófeszültséghez tartozó maximuma
HbSS	hemoglobin S
HDL	nagy sűrűségű lipoprotein
ISC	irreverzibilis sarlósejt
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein
LORCA	Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer
M	vörösvérsejt aggregáció Myrenne által nyugalomban mért értéke
M1	vörösvérsejt aggregáció Myrenne által alacsony nyírásán mért értéke
NO	nitrogén-monoxid
PBS	foszfát puffer
PMS	fenazin-metoszulfát
RSC	reverzibilis sarlósejt
SCD	sarlósejtes anémia
SS	nyírófeszültség
SS <sub>1/2</sub>	az EI <sub>max</sub> feléhez tartozó nyírófeszültség érték

## VIII. Köszönetnyilvánítás

Ezen vizsgálatokat részben a Pécsi Tudományegyetem, I.sz. Belgyógyászati Klinikáján és részben a Dél-Kaliforniai Egyetem (USC), Élettani és Biofizikai Intézetében végeztük el.

Ezúton szeretném kifejezni hálámat Prof. Dr. Tóth Kálmánnak, témavezetőmnek, akinek tudományos és baráti támogatását munkám során végig érezhettem. Szeretném megköszönni Prof. Herbert J. Meiselmánnak és Prof. Jack Feinbergnek a tőlük kapott kiemelkedő tudományos segítséget, és a lehetőséget, hogy méréseket végezhettem a USC-n. Hálával tartozom Dr. Juricskay Istvánnak az értékes tudományos és statisztika útmutatásért. Szintén köszönettel tartozom Dr. John C. Woodnak, Dr. Thomas D. Coates-nak és Dr. Jon A. Detterich-nek a klinikai kutatás terén tőlük kapott bátorításért, és a Children's Hospital Los Angelesben elvégzett közös munkáért.

Hálás vagyok Dr. Czopf Lászlónak, Dr. Habon Tamásnak, Dr. Késmárky Gábornak és Dr. Márton Zsoltnak a tőlük kapott hasznos ötletekért. Szeretném megköszönni a Haemorheológiai Kutatólaboratórium volt és jelenlegi PhD hallgatóinak; Dr. Kenyeres Péternek, Dr. Papp Juditnak, Dr. Sándor Barbarának, Dr. Tóth Andrásnak és a TDK hallgató Bótor Dávidnak a tőlük kapott támogatást és a baráti laborkörülményeket.

Végül, szeretném megköszönni Tapasztóné Fazekas Kornéliának, Rosalinda B. Wenby-nek és Tatiana M. Hernandeznek a tőlük kapott felbecsülhetetlen segítséget.

Ezen kutatásokat a SROP-4.2.1.B-10/2/KONV-2010-000 (TAMOP 4.2.1.B), az NFL Award RGA006494, az NIH Awards HL099412, az HL48484 és a CIRM Award DR1-01452 támogatta.

## IX. A szerző közleményei

### 1. Tudományos folyóiratban megjelent publikációk

- [1] Kesmarky G, Kenyeres P, **Rabai M**, Toth K. Plasma Viscosity: a Forgotten Variable? *Clin Hemorheol Microcirc* **39**, 243-246, 2008.  
Impakt faktor: 1,814
- [2] **Rábai M**, Tóth A, Kenyeres P, Márk L, Márton Zs, Juricskay I, Sümegi B, Tóth K. Vörösbor és alkoholmentes vörösborkivonat kedvező in vitro haemorheológiai hatásai. *Érbetegségek* **2**, 45-52, 2009.
- [3] **Rabai M**, Toth A, Kenyeres P, Mark L, Marton Zs, Juricskay I, Toth K, Czopf L. In vitro hemorheological effects of red wine and alcohol-free red wine extract. *Clin Hemorheol Microcirc* **44**, 227-236, 2010.  
Impakt faktor: 2,838
- [4] Kenyeres P, **Rabai M**, Toth A, Kesmarky G, Marton Zs, Toth K. Reviewing data reduction methods for ektacytometry. *Clin Hemorheol Microcirc* **47**, 143-150, 2011.  
Impakt faktor: 3,398
- [5] Papp J, Toth A, Sandor B, Kiss R, **Rabai M**, Kenyeres P, Juricskay I, Kesmarky G, Szabados S, Toth K. The influence of on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting on hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* **49**, 331-346, 2011.  
Impakt faktor: 3,398

- [6] Friedman D, Szmuszkovicz J, **Rabai M**, Detterich JA, Menteer J, Wood JC. Systemic endothelial dysfunction in children with idiopathic pulmonary arterial hypertension correlates with disease severity. *J Heart Lung Transplant*, **31**, 642-647, 2012.  
Impakt faktor: 4,332
- [7] Detterich JA, Alexy T, **Rabai M**, Wenby RB, Dongelyan A, Coates TD, Wood JC, Meiselman HJ. Low-shear red blood cell oxygen transport effectiveness is adversely affected by transfusion and further worsened by deoxygenation in sickle cell disease patients on chronic transfusion therapy. *Transfusion*, accepted for publication.  
Impakt faktor: 3,217
- [8] **Rabai M**, Meiselman HJ, Wenby RB, Detterich JA, Feinberg J. Analysis of light scattering by red blood cells in ektacytometry using global pattern fitting. *Biorheol*, accepted for publication.  
Impakt faktor: 1,93
- [9] Toth A, Sandor B, Papp J, **Rabai M**, Botor D, Horvath Zs, Kenyeres P, Juricskay I, Toth K. Moderate red wine consumption improves hemorheological parameters in healthy volunteers. *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.  
Impakt faktor: 3,398
- [10] **Rabai M**, Detterich JA, Wenby RB, Toth K, Meiselman HJ. Effects of ethanol on red blood cell rheological behavior. *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.  
Impakt faktor: 3,398
- [11] Papp J, Sandor B, Vamos Z, Botor D, Toth A, **Rabai M**, Kenyeres P, Cseplo P, Juricskay I, Mezosi E, Koller A, Toth K. Antiplatelet effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination - *in vitro* and *in vivo* comparisons. *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.  
Impakt faktor: 3,398
- [12] **Rabai M**, Meiselman HJ, Wenby RB, Detterich JA, Feinberg J. Analysis of sickled blood using ektacytometry. *Biorheol*, manuscript under preparation.  
Impakt faktor: 1,93

**Kumulatív impakt faktor: 33,051**

## **2. Publikált absztraktok**

- [1] Karádi Z, Lukáts B, Papp Sz, Takács G, Lénárd L, Egyed R, Szalay Cs, **Rábai M**. The forebrain glucose-monitoring neural network: multiple roles in the central homeostatic regulation. *A Magyar Idegtudományi Társaság 2005. évi Tudományos Kongresszusa*, 2005. január 26-29., Pécs, Magyarország, *Clin Neurosci* **58**, Suppl. 1: 47-48, 2005.
- [2] Papp Sz, Lukáts B, Takács G, Szalay Cs, **Rábai M**, Karádi Z. Multiple chemosensitivity of feeding-associated neurons in the limbic forebrain. *A Magyar Idegtudományi Társaság 2005. évi Tudományos Kongresszusa*, 2005. január 26-29., Pécs, Magyarország, *Clin Neurosci* **58**, Suppl. 1: 74-75, 2005.
- [3] Takács G, Lukáts B, Papp Sz, Szalay Cs, **Rábai M**, Karádi Z. Hoemostatic changes after IL-1 $\beta$  microinjections into the nucleus accumbens of the rat. *A Magyar Idegtudományi*

- Társaság 2005. évi Tudományos Kongresszusa*, 2005. január 26-29., Pécs, Magyarország, *Clin Neurosci* **58**, Suppl. 1: 94, 2005.
- [4] Papp Sz, Lukáts B, Takács G, **Rábai M**, Szalay Cs, Karádi Z. Endogenous and exogenous chemosensitivity of feeding-related limbic neurons. *A Magyar Élettani Társaság 2005. évi Tudományos Kongresszusa*, 2005. június 4-6., Budapest, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **92**, (3-4): 293, 2005.
- [5] Takács G, Lukáts B, Papp Sz, **Rábai M**, Szalay Cs, Karádi Z. Homeostatic alterations induced by IL-1  $\beta$  microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *A Magyar Élettani Társaság 2005. évi Tudományos Kongresszusa*, 2005. június 4-6., Budapest, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **92**, (3-4): 313, 2005.
- [6] Takacs G, Inui T, Papp Sz, Szalay Cs, **Rabai M**, Meszaros L, Yamamoto T, Lenard L, Karadi Z. Streptozotocin induced taste perception alteration in the nucleus accumbens of the rat. *International IBRO Workshop*, January 26-28, 2006, Budapest, Hungary, *Clin Neurosci* **59**, Suppl. 1: 64, 2006.
- [7] Papp Sz, Lukáts B, Takács G, Szalay Cs, **Rábai M**, Inui T, Yamamoto T, Lénárd L, Karádi Z. Taste responsive neurons in the limbic forebrain. *A Magyar Élettani Társaság 2006. évi Tudományos Kongresszusa*, 2006. június 7-9., Szeged, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **93**, (2-3): 217, 2006.
- [8] Takács G, Papp Sz, Lukáts B, Szalay Cs, **Rábai M**, Inui T, Yamamoto T, Lénárd L, Karádi Z. Taste perception deficit after streptozotocin microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *A Magyar Élettani Társaság 2006. évi Tudományos Kongresszusa*, 2006. június 7-9., Szeged, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **93**, (2-3): 234, 2006.
- [9] Takacs G, Lukats B, Papp Sz, Szalay Cs, **Rabai M**, Karadi Z. Homeostatic role of interleukin-1 beta in the nucleus accumbens of the rat. *Forum of European Neuroscience*, July 8-12, 2006, Vienna, Austria, *A043* **17**, 116, 2006.
- [10] Papp Sz, Takács G, Szalay Cs, Lukáts B, **Rábai M**, Fotakos D, Karádi Z. Complex chemosensitivity of limbic neurons in the rat and monkey forebrain. *A Magyar Idegtudományi Társaság 2007. évi Tudományos Kongresszusa*, 2007. január 25-27., Szeged, Magyarország, *Clin Neurosci* **60**, Suppl. 1: 51-52, 2007.
- [11] Szalay Cs, Schwarcz A, Auer T, Janszky J, Dóczy T, Hanna S, **Rábai M**, Karádi Z. Gustatory stimulation elicited changes in the human brain: an fMRI study. *A Magyar Idegtudományi Társaság 2007. évi Tudományos Kongresszusa*, 2007. január 25-27., Szeged, Magyarország, *Clin Neurosci* **60**, Suppl. 1: 61-62, 2007.
- [12] Takács G, Papp Sz, Szalay Cs, **Rábai M**, Hanna S, Karádi Z. Metabolic consequences of interleukin 1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *A Magyar Idegtudományi Társaság 2007. évi Tudományos Kongresszusa*, 2007. január 25-27., Szeged, Magyarország, *Clin Neurosci* **60**, Suppl. 1: 63-64, 2007.
- [13] Karadi Z, Lukats B, Papp Sz, Takacs G, Szalay Cs, **Rabai M**, Egyed R, Lenard L. Homeostatic significance of the forebrain glucose-monitoring neuronal network. *Congress of the Japanese Physiological Society*, March 20-22, 2007, Osaka, Japan, *Jpn J Physiol* **57**, Suppl. S: 33, 2007.
- [14] Karadi Z, Papp Sz, Szalay Cs, Lukats B, Takacs G, Egyed R, **Rabai M**, Fotakos D, Lenard L. Forebrain glucose-monitoring neurons and the regulation of homeostasis. *European*

- Congress on Obesity Post-Congress Satellite Nutrition, Metabolism and the Brain*, April 25-27, 2007, Tihany, Hungary, *Obesitol Hung* **7**, Suppl. 2: 23, 2007.
- [15] Takacs G, Papp Sz, Szalay Cs, Lukats B, **Rabai M**, Karadi Z. Homeostatically relevant interleukin mechanisms in the nucleus accumbens of the rat. *European Congress on Obesity Post-Congress Satellite Nutrition, Metabolism and the Brain*, April 25-27, 2007, Tihany, Hungary, *Obesitol Hung* **7**, Suppl. 2: 50, 2007.
- [16] Papp Sz, Lukáts B, Takács G, Szalay Cs, **Rábai M**, Fotakos D, Karádi Z. Chemosensitive neurons in the nucleus accumbens of the rat and rhesus monkey. *A Magyar Élettani Társaság 2007. évi Tudományos Kongresszusa*, 2007. június 6-8., Pécs, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **94**, (4): 383, 2007.
- [17] Takács G, Papp Sz, Szalay Cs, **Rábai M**, Fotakos D, Hanna S, Karádi Z. Homeostatic aspects of interleukin mechanisms in the nucleus accumbens of the rat. *A Magyar Élettani Társaság 2007. évi Tudományos Kongresszusa*, 2007. június 6-8., Pécs, Magyarország, *Acta Physiol Hung* **94**, (4): 396-397, 2007.
- [18] Kenyeres P, **Rábai M**, Tarsoly P, Késmárky G, Tóth K, Bogár L. Az alacsony hematokrit-vérviszkozitás arány, mint rizikótényező a koszorúérbetegek halálozásában *A Magyar Kardiológusok Társasága 2008. évi Tudományos Kongresszusa*, 2008. május 7-10., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **38**, Suppl. B: B29, 2008.
- [19] Kesmarky G, **Rabai M**, Kenyeres P, Marton Zs, Toth K. Whole blood viscosity: is it useful or useless in the clinical practice? *13<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 6<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 9-13, 2008, State College, PA, USA, *Biorheol* **45**, 56, 2008.
- [20] Kenyeres P, **Rabai M**, Tarsoly P, Kesmarky G, Toth K, Bogar L. Rheological oxygen carrying capacity as a mortality risk factor in coronary heart disease. *13<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 6<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 9-13, 2008, State College, PA, USA, *Biorheol* **45**, 57, 2008.
- [21] Kenyeres P, **Rabai M**, Toth A, Kesmarky G, Marton Zs, Toth K. Methods to simplify, correct and compare ektacytometric results. *13<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 6<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 9-13, 2008, State College, PA, USA, *Biorheol* **45**, 138, 2008.
- [22] **Rabai M**, Toth A, Kenyeres P, Marton Zs, Kesmarky G, Toth K. Rheological benefit of red wine and its alcohol free extract. *13<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 6<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 9-13, 2008, State College, PA, USA, *Biorheol* **45**, 147, 2008.
- [23] Kenyeres P, **Rabai M**, Toth A, Kesmarky G, Toth K. The impact of in vitro aging on erythrocyte aggregation. *25th Conference of the European Society for Microcirculation*, August 26-29, 2008, Budapest, Hungary, *J Vasc Res* **45**, 78, 2008.
- [24] Kenyeres P, **Rábai M**, Tóth A, Késmárky G, Bogár L, Tóth K. Egy új megközelítés az optimális hematokrit értelmezésében akut koronária szindrómás betegek adatai alapján. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2009. évi Tudományos Kongresszusa*, 2009. május 6-9., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **39**, Suppl. A: A66, 2009.
- [25] **Rábai M**, Pálfi A, Bartha É, Kenyeres P, Tóth A, Magyar K, Sümegi B, Tóth K. Vörösbor és alkoholmentes vörösborkivonat protektív hatásai állatkísérletes és in vitro hemoreológiai modellekben. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2009. évi Tudományos*

- Kongresszusa*, 2009. május 6-9., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **39**, Suppl. A: A74, 2009.
- [26] **Rábai M**, Tóth A, Kenyeres P, Márk L, Márton Zs, Juricskay I, Sümegei B, Tóth K. Vörösbor és alkoholmentes vörösborkivonat kedvező in vitro haemorheológiai és kardioprotektív hatásai. *6. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2009. május 22-23., Balatonkenese, Magyarország, *Érbetegségek* **2**, 45, 2009.
- [27] Kenyeres P, **Rábai M**, Tóth A, Tóth K. Új módszer a hematokrit - vérviszkozitás arány, és a virtuális optimális hematokrit meghatározására. *6. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2009. május 22-23., Balatonkenese, Magyarország, *Érbetegségek* **2**, 59, 2009.
- [28] Kenyeres P, **Rabai M**, Toth A, Toth K. New method to determine hematocrit to blood viscosity ratio and virtual optimal hematocrit. *15<sup>th</sup> Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation*, June 28 - July 1, 2009, Pontresina/St. Moritz, Switzerland, *Clin Hemorheol Microcirc* **42**, 191, 2009.
- [29] **Rabai M**, Kenyeres P, Toth A, Palfi A, Bartha E, Magyar K, Sumegi B, Toth K. In vitro hemorheological and cardioprotective effects of red wine and alcohol free red wine extract. *15<sup>th</sup> Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation*, June 28 - July 1, 2009, Pontresina/St. Moritz, Switzerland, *Clin Hemorheol Microcirc* **42**, 191-192, 2009.
- [30] Sándor B, Papp J, Tóth A, **Rábai M**, Kenyeres P, Koller Á, Tóth K. Hiperhomociszteinémia hatása a vér reológiai paramétereire. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2010. évi Tudományos Kongresszusa*, 2010. május 5-8., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **40**, Suppl. G: G69, 2010.
- [31] Papp J, Tóth A, Sándor B, Kiss R, **Rábai M**, Kenyeres P, Szabados S, Tóth K. On-pump és off-pump technikával végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hemoreológiai összehasonlítása. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2010. évi Tudományos Kongresszusa*, 2010. május 5-8., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **40**, Suppl. G: G89, 2010.
- [32] Sándor B, Papp J, Tóth A, **Rábai M**, Kenyeres P, Koller Á, Tóth K. Hemoreológiai vizsgálatok hiperhomociszteinémiás patkány modellen. *XVII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökutató Társaság II. közös kongresszusa*, 2010. június 25-26., Pécs, Magyarország, Absztrakt: 18.
- [33] Papp J, Tóth A, Sándor B, Kiss R, **Rábai M**, Kenyeres P, Szabados S, Tóth K. Különböző technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hemoreológiai összehasonlítása. *XVII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökutató Társaság II. közös kongresszusa*, 2010. június 25-26., Pécs, Magyarország, Absztrakt: 25.
- [34] Papp J, Toth A, Sandor B, Kiss R, **Rabai M**, Kenyeres P, Szabados S, Toth K. The influence of on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting (CABG) on hemorheological parameters. *18<sup>th</sup> International Meeting of the Alpe-Adria Association of Cardiology*, September 16-18, 2010, Vienna, Austria, *J Kardiol* **17**, Suppl. A: B3-1, 2010.

- [35] Kiss R, Papp J, Tóth A, **Rábai M**, Farkasfalvi K, Tóth K, Szabados S. Az off-pump és on-pump technika hatása a hemoreológiai és vérzési-transzfúziós paraméterekre. *Magyar Szívsebészeti Társaság XVII. Kongresszusa*, Pécs, Magyarország, 2010. november 4-6.
- [36] Papp J, Sandor B, Toth A, **Rabai M**, Vamos Z, Kenyeres P, Koller A, Toth K. Effects of hyperhomocysteinemia on various hemorheological parameters. *2<sup>nd</sup> International Symposium on Hypertension, Translational Medicine in Hypertension*, November 18-21, 2010, Osijek, Croatia, Abstract: 32.
- [37] Kenyeres P, Papp J, Tóth A, **Rábai M**, Fehér G, Koltai K, Késmárky G, Tóth K. Szinergizmus és kereszthatás az acetilszalicilsavval és tienopiridin származékokkal elérhető thrombocytá aggregáció gátlás esetében. *7. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2011. április 1-2., Dobogókő, Magyarország, *Érbetegségek*, Suppl. 1: 13, 2011.
- [38] Papp J, Tóth A, Sándor B, **Rábai M**, Kenyeres P, Kiss R, Szabados S, Tóth K. On-pump és off-pump technikával végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hatása a hemoreológiai és vérzési-transzfúziós paraméterekre. *7. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2011. április 1-2., Dobogókő, Magyarország, *Érbetegségek*, Suppl. 1: 20-21, 2011.
- [39] Kenyeres P, Tóth A, Koltai K, Fehér G, Papp J, **Rábai M**, Tóth K. Acetilszalicilsav és tienopiridinek trombocitaaggregáció gátlásának szinergizmusa. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2011. évi Tudományos Kongresszusa*, 2011. május 11-14., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **41**, Suppl. F: F33, 2011.
- [40] Papp J, Tóth A, Kiss R, Sándor B, **Rábai M**, Kenyeres P, Szabados S, Tóth K. Különböző technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hatása a hemoreológiai és vérzési-transzfúziós paraméterekre. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2011. évi Tudományos Kongresszusa*, 2011. május 11-14., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **41**, Suppl. F: F47, 2011.
- [41] Papp J, Vamos Z, Sandor B, Toth A, **Rabai M**, Kenyeres P, Cseplo P, Koller A, Toth K. In vitro comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid and metamizole in blood samples of healthy subjects. *FAMÉ*, 2011. június 8-11., Pécs, Hungary, *Acta Phys* **202**, Suppl. 684: 91-92, 2011.
- [42] Papp J, Toth A, Sandor B, **Rabai M**, Kiss R, Toth K. The influence of various coronary artery bypass grafting (CABG) methods on hemorheological parameters. *16<sup>th</sup> Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation*, June 18-21, 2011, Munich, Germany, Abstract: 96.
- [43] Toth A, **Rabai M**, Kenyeres P, Meiselman HJ, Toth K. In vitro hemorheological effects of red wine, alcohol free red wine extract and alcohol. *16<sup>th</sup> World Congress on Heart Disease*, July 23-26, 2011, Vancouver, BC, Canada, *J Heart Dis* **8**, 10, 2011.
- [44] Kenyeres P, Papp J, Toth A, **Rabai M**, Feher G, Koltai K, Toth K. Synergic antiplatelet effect of acetylsalicylic acid and thienopyridines. *19<sup>th</sup> International Meeting of the Alpe-Adria Association of Cardiology*, September 15-17, 2011, Budapest, Hungary, *Interventional Medicine & Applied Sciences* **3**, 148, 2011.
- [45] Kenyeres P, Horváth Zs, **Rábai M**, Papp J, Sándor B, Bogár L, Tóth K. Prognostic value of hematocrit to blood viscosity ratio in acute coronary syndrome patients. *XVIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató*

- Társaság III. közös kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Magyarország, Absztrakt: S2/1.
- [46] Papp J, Sándor B, Tóth A, Horváth Zs, Bótor D, **Rábai M**, Kenyeres P, Juricskay I, Vámos Z, Cséplő P, Koller Á, Tóth K. In vitro and in vivo comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination. *XVIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikorcirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökgyógyászati Társaság III. közös kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Magyarország, Absztrakt: S2/2.
- [47] **Rábai M**, Detterich JA, Wenby BR, Meiselman HJ, Tóth K. Ethanol-induced in vitro hemorheological alterations. *XVIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikorcirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökgyógyászati Társaság III. közös kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Magyarország, Absztrakt: S2/3.
- [48] Tóth A, Sándor B, Papp J, Bótor D, Horváth Zs, **Rábai M**, Kenyeres P, Juricskay I, Tóth K. Red wine and hemorheology: complex results of in vitro and in vivo studies in healthy volunteers. *XVIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikorcirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökgyógyászati Társaság III. közös kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Magyarország, Absztrakt: S2/5.
- [49] Bótor D, Papp J, Horváth Zs, Tóth A, Sándor B, **Rábai M**, Csernus Z, Szabó Zs, Késmárky G, Tóth K. Raynaud-kór: Az életet megkeserítő betegség hemoreológia vonatkozásai. *XVIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, a Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikorcirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökgyógyászati Társaság III. közös kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Magyarország, Absztrakt: S3/7.
- [50] Papp J, Koltai K, Tóth A, Bótor D, Sándor B, **Rábai M**, Csernus Z, Tóth K, Késmárky G. Hemoreológiai tényezők szerepe perifériás vazospasztikus kórképekben. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2012. évi Tudományos Kongresszusa*, 2012. május 9-12., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **42** Suppl. A: A2, 2012.
- [51] **Rábai M**, Meiselman HJ, Tóth K. Az etanol in vitro hemoreológiai paraméterekre kifejtett hatásai. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2012. évi Tudományos Kongresszusa*, 2012. május 9-12., Balatonfüred, Magyarország, *Card Hung* **42** Suppl. A: A111, 2012.
- [52] Toth A, Sandor B, Papp J, Botor D, Horvath Zs, **Rabai M**, Kenyeres P, Juricskay I, Toth K. Red wine and hemorheology: complex results of in vitro and in vivo studies in healthy volunteers. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 109, 2012.
- [53] Papp J, Sandor B, Toth A, Horvath Zs, Botor D, **Rabai M**, Kenyeres P, Juricskay I, Vamos Z, Cseplo P, Koller A, Toth K. In vitro and in vivo comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 110, 2012.
- [54] **Rabai M**, Detterich JA, Wenby RB, Toth K, Meiselman HJ. Ethanol-induced in vitro hemorheological alterations. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup>*



- International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 111, 2012.
- [55] Kesmarky G, Papp J, Koltai K, Toth A, Botor D, Sandor B, **Rabai M**, Csernus Z, Toth K. Raynaud's disease: hemorheological characteristics. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 131, 2012.
- [56] Kenyeres P, Horvath Zs, **Rabai M**, Papp J, Sandor B, Toth K, Bogar L. Prognostic value of hematocrit to blood viscosity ratio in acute coronary syndrome patients. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 133, 2012.
- [57] Detterich JA, Alexy T, **Rabai M**, Dongelyan A, Coates TD, Wood JC, Meiselman HJ. Low shear red cell oxygen transport effectiveness is adversely affected by transfusion and further worsened by deoxygenation in sickle cell disease patients on chronic transfusion therapy. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 136, 2012.
- [58] Feinberg J, Meiselman HJ, Wenby RB, Detterich JA, **Rabai M**. Analysis of light scattering by red blood cells in ektacytometry using global curve fitting. *14<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 7<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol* **49**, 166, 2012.