

# A vénák fizioiógiás és kóros adaptációja hemodinamikai stresszhez

Doktori értekezés

**Dr. Gósi Gergely**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Acsády György, D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Sándor Tamás, Ph.D.

Dr. Szabó Attila, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Perner Ferenc, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Járai Zoltán, Ph.D., egyetemi tanár

Dr. Sugár István, Ph.D.

Budapest  
2015

## Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke .....	4
1. Bevezetés .....	6
1.1. A vénás keringés élettani jellegzetességei .....	9
1.1.1. Nyomás és áramlás viszonyok a vénás rendszerben .....	9
1.1.2. A vénák szöveti alkotóelemei és funkciójuk .....	13
1.1.3. A vénák tágasságának akut szabályozása .....	14
1.1.4. A vénafal és lumen krónikus szabályozása .....	17
1.2. Fokozott gravitációs terhelés hatásai az alsó végtag vénás keringésére .....	18
1.3. Hemodinamikai terhelés klinikai vonatkozásai .....	21
1.3.1. Krónikus vénás elégtelenség és varikozitás .....	21
1.3.2. Vénák viselkedése artériás körülmények között .....	24
2. Célkitűzések .....	27
3. Módszerek .....	29
3.1. Humán vénák biomechanikai tulajdonságai .....	29
3.1.1. Betegek, érminták .....	29
3.1.2. In vitro biomechanikai vizsgálatok .....	29
3.1.3. Statisztikai analízis .....	31
3.2. Emberi vénák kvantitatív szövettani elemzése .....	31
3.2.1. Betegek, érminták .....	31
3.2.2. Hisztokémiai és immun-hisztokémiai vizsgálatok .....	32
3.3. Vezikulumok sűrűsége az endotélben .....	33
3.3.1. Betegek, érminták .....	33
3.3.2. A vezikulumok elektron-mikroszkópos és kvantitatív analízise .....	33
3.3.3. Statisztikai elemzés .....	34
3.4. Vezikulumok geometriája az endotélben .....	35
3.4.1. Betegek, érminták .....	35
3.4.2. Geometriai vizsgálatok .....	35
3.4.3. Statisztikai analízis .....	35
4. Eredmények .....	36

4.1. Különbség a nyaki és lábszári vénák biomechanikájában .....	36
4.1.1. Geometria .....	36
4.1.2. Elaszticitás .....	39
4.1.3. Kontraktilitás .....	42
4.1.4. Endoteliális dilatáció .....	44
4.2. A nyaki és lábszári vénák szövettani eltérései .....	45
4.3. Elektrondenz vezikulumok sűrűsége a felső és alsó végtagi endotélben	46
4.4. Az elektrondenz vezikulumok geometriájának eltérései .....	48
5. Megbeszélés .....	51
5.1. Krónikus ortosztázis hatása a vénák biomechanikájára .....	51
5.2. Krónikus gravitációs terhelés hatása a vénák szövettani felépítésére	56
5.3. Tartós ortosztázis hatása az endotél vezikulumainak sűrűségére .....	57
5.4. Tartós gravitációs terhelés hatása az endotél vezikulumok geometriájára .....	61
6. Következtetések .....	63
Összefoglalás .....	65
Summary .....	66
Irodalomjegyzék .....	67
Saját publikációk jegyzéke .....	82
Köszönetnyilvánítás .....	84

**Rövidítések jegyzéke**

Ach	Acetilcolin
ANP	Atriális nátriuretikus peptid
CGRP	Kalcitonin génnel összefüggő peptid
CRP	C-reaktív protein
CVI	Krónikus vénás elégtelenség
ECE	Endotelin konvertáló enzim
EDHF	Endotélium eredetű hiperpolarizáló faktor
EDRF	Endotél eredetű relaxációs faktor
EDTA	Etilén-diamin-tetraecetsav
EGTA	Etilén-glikol-tetraecetsav
EM	Elektron-mikroszkóp
ET	Endotelin
FGF	Fibroblaszt növekedési faktor
ICAM	Intercelluláris adhézións molekula
IH	Intimális hiperplázia
IL	Interleukin
LDL	Alacsony denzitású lipoprotein
L-NAME	L-NG-nitro-arginin-metilészter
MMP	Mátrix metalloproteináz
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NE	Noradrenalin
nKR	Krebs-Ringer élettani sóoldat
NO	Nitrogén-oxid
PDGF	Trombocita eredetű növekedési faktor
PECAM	Trombocita endotél sejt adhézións molekula
SMA	Simaizom aktin
TFPI	Szöveti faktor út inhibitor

TGF	Transzformáló növekedési faktor
TIMMP	Mátrix metalloproteináz szöveti inhibitora
tPA	Szöveti plazminogén aktivátor
v.	Vena
VCAM	Vaszkuláris sejt adhéziós molekula
VEGF	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
VEGFR	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor
VSM	Vena saphena magna
VWF	VonWillebrand faktor
WPB	Weibel-Palade test

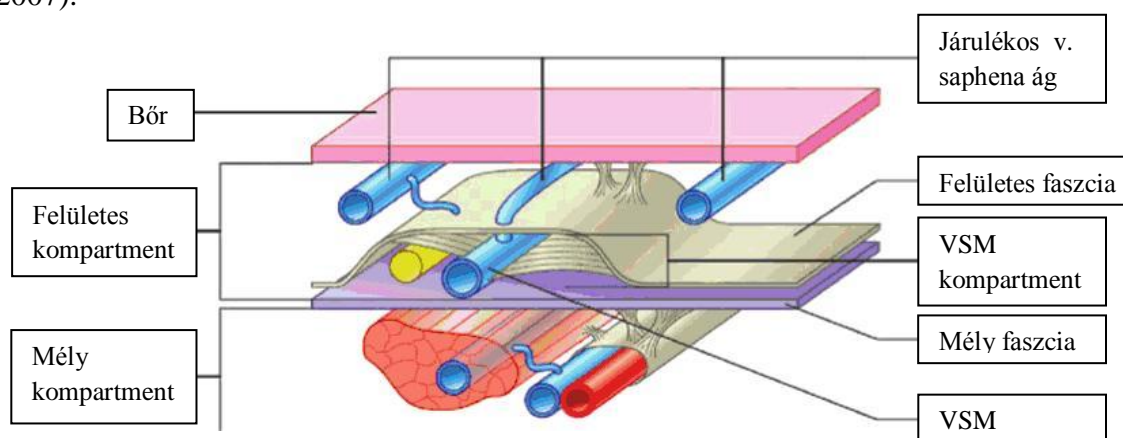
## 1. Bevezetés

Az erek anatómiája és a keringés élettana hosszú ideje foglalkoztatta az emberiséget. A vénás rendszert, bár billentyűk és perforánsok nélkül, de némi szövettani elemet is tartalmazva Andreas Vesalius írta le pontosan 1543-ban a *De humani corporis fabrica* című könyvében. A billentyűk részletes anatómiájáról és funkciójáról Hyeronimus Fabricius számolt be 1603-ban. A perforánsok leírása és szerepük tisztázása még két évszázadot váratott magára. A keringést Fabricius tanítványa, Willam Harvey fedezte fel a XVII. század elején. Forradalmi jelentőségű könyve, az *Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis (in animalibus)* 1628-ban jelent meg, amelyben tisztázta, hogy az évezredes galénoszi tanokkal ellentétben az artériákban nem pneuma, azaz levegő, hanem vér áramlik a periféria felé és a vénákban nem a periféria, hanem a szív felé folyik a vér. Az ezt követően megindult vérkeringés kutatás elsősorban az artériákra összpontosított, jelentősen kevesebb figyelem fordult a vénák felé. Ennek oka, többek között abban állhat, hogy az artériás betegségeket és következményeit fontosabbnak tartották, illetve a vénák kísérletes vizsgálata változó geometriájuk és nyomás-áramlás viszonyaik miatt nehézkesnek tűnt (Benedek 1990, Bergan 2007, Monos 2010).

Ezzel szemben sok epidemiológiai adat áll rendelkezésre, amely a vénás betegségek jelentőségét támasztja alá. Átlag populáción végzett vizsgálatok szerint a krónikus vénás elégtelenség (CVI) gyakorisága 7-9%, a visszeresség pedig –az eredményeket átlagolva- nőknél 30%-ban, férfiaknál 25%-ban fordul elő a nyugati társadalmakban. A varikozitás előfordulása Magyarországon még ennél is magasabb (Brand és mtsai 1988, Evans és mtsai 1999, Maurins és mtsai 2008, Sandor 2010). A vénás betegségek, főleg az előrehaladott CVI nemcsak az életminőségben okoz jelentős rosszabbodást, hanem gazdasági vonatkozása is jelentős. Az Európai Unió több országában végzett felmérés szerint a vénás betegségekre közvetlenül vagy közvetetten fordított összeg az egészségügyi költségvetés 1,5-2%-a (Bergan és mtsai 2006, Lim és Davies 2009, Sándor 2010).

A vénás rendszer anatómiájának ismertetése meghaladja a jelen dolgozat kereteit, de néhány részlet a hemodinamikai terhelés szempontjából fontos lehet. A vénákban elhelyezkedő billentyűk jelentős egyéni változatosságot mutatnak. Az alsó

végtag mély és felületes vénáiban is több billentyű van a lábszáron, mint a combon. A v. saphena magnában (VSM) általában 6 billentyű található, a proximális a beömléstől néhány centiméterre helyezkedik el. A v. femoralis communisban 70-80%-ban, a v. iliaca externában 20-30%-ban van egy billentyű. A v. iliaca communis és cava inferior billentyűvel nem rendelkeznek. A felső végtagon a billentyűk jelentősége kisebb, mind a mély, mind a felületes vénákban kevesebb található, mint az alsó végtagon. A billentyűk sok esetben a kisebb vénában a nagyobb érbe való beszájadzás előtt találhatók. A felületes és mély vénákat összekötő perforánsokból az alsó végtagban kb. 150 található, klinikai jelentősége azonban csak egy részüknek van. A nagyobb perforánsok billentyűvel is rendelkeznek, a vért a mélyvénák felé irányítják. A felső végtagon perforáns kis számban fordul elő. A faszciával borított izomrekeszben futnak a mély vénák az alsó végtagon, míg a faszciától felszínesebben a felületes vénák. A VSM az izomfascia és a felületes fascia közötti rekeszben helyezkedik el (1. ábra). Egyedinek számítanak a lábszár izomzat vértároló funkciót betöltő szinuszai, amelyek a soleus és gastrocnemius vénák felé vezetődnek el, majd ezek a v. popliteába ömlenek (Bergan 2007).



1. ábra A felületes és mély vénák elhelyezkedése az alsó végtag rétegeiben (Bergan 2007).

A vénák nagyszámú funkcióval rendelkeznek. 1. A vér szállítását nem csupán passzív csőként végzik. A vénás rendszer a keringés kisnyomású területe, a kapillárisok vénás oldalán az intraluminális nyomás 15 Hgmm körüli, a nyomás gradiens, amely az áramlást hajtja a jobb pitvar felé mindössze 10-20 Hgmm. A lassabb, de nagy volumenű áramlás irányát billentyűk határozzák meg, amelyek egyben a véroszlop hidrosztatikai

nyomását is részben leveszik a vénafalról (Monos és mtsai 1995, Zervides és mtsai 2008).

2. A vénák szelektív barrier funkciója abban áll, hogy határt képez a makromolekulák és vérsejtek számára a vér és az intersticium között. Különböző károsító hatások, gyulladás következtében elsősorban a kapillárisok vénás oldala és a venulák területén a barrier funkció sérül és a szövetek közé további károsodást okozó molekulák és sejtek kerülnek (Monos 1992, Monos és mtsai 1995).

3. A vénák a vértérfogat 60-70%-át tárolják, ezért kapacitív ereknek is hívják őket. A venulák száma kétszerese az arteriolákénak és az egyes venulák keresztmetszete is 50%-kal nagyobb lehet az azonos elhelyezkedésű arteriolához képest. A vénákban uralkodó alacsonyabb nyomásviszonyok miatt faluk vékonyabb, tágulékonyságuk, azonban nyolcszor nagyobb, mint az artériáké, így összességében kapacitanciájuk, azaz az egységnyi nyomásváltozásra bekövetkező abszolút térfogatváltozás 24-25-ször meghaladja az artériákét. A vért különböző szervek is tudják tárolni még. A májban 2-300, a lépben 150, a hasi vénákban 300 ml körüli vér tárolására van lehetőség. Adottságaik alapján a vénák a vérkapacitás szabályozására képesek, összehúzódásukkal vagy a vérraktárak mozgósításával a hiányzó volumen pótlására alkalmasak egy bizonyos határig (Molnár és mtsai 2008a, Monos 2010, Monos és mtsai 1995).

4. Az emberben álló helyzetben a vénákban keletkezett véroszlop hidrosztatikai nyomása a tágulékony érfalra nehezedik. A gyakori, akár hirtelen testhelyzet változtatással, az ortosztatikus terheléssel szembeni vénás szabályozás hiányában a szívbe való vénás visszaáramlás megszűnne, az ember „elvézne” a vénáiba (Monos és mtsai 2003b, Monos és mtsai 2007).

5. A vénafalban különböző mediátorok képződnek. A legaktívabb alkotóelem az endotélsejt, amely a biológiailag aktív molekulák termelésén kívül tárolásukat és szállításukat is végzi. Az endotélben termelődő ágensek közül az egyik legsokoldalúbb, a 80-as években felfedezett endotél eredetű relaxációs faktor (EDRF), amelyről kiderült, hogy a nitrogén monoxid (NO) molekula (Monos 2010) (Monos 1992).

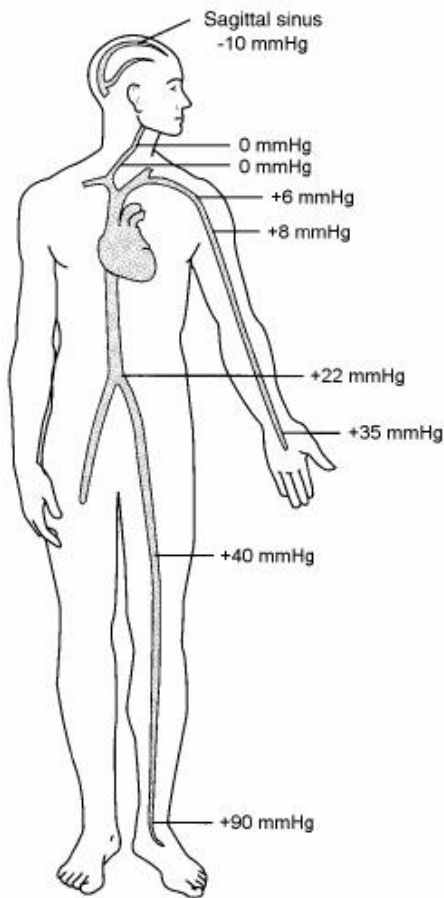
6. A vénák további funkciói közül említésre méltó még a lokális trombusképződés gátlása, az angiogenezis és az immunfunkciók.



## *1.1. A vénás keringés élettani jellegzetességei*

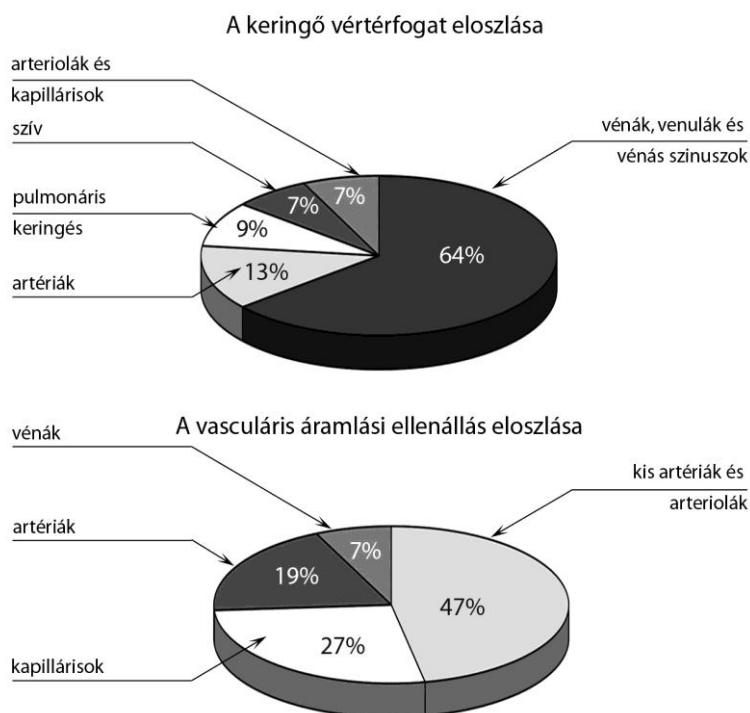
### *1.1.1. Nyomás és áramlás viszonyok a vénás rendszerben*

Az áramló folyadékok teljes nyomása egy statikus komponensből, azaz az oldalnyomásból és a tömegáramlásból adódó dinamikus összetevőből, a kinematikus nyomásból adódik össze. Az érrendszerben a teljes nyomás 90-95%-át az oldalnyomás adja, ezért a napi gyakorlatban az oldalnyomás mérése elegendő. A teljes nyomást invazív módszerrel lehet mérni. A kapillárisok artériás oldalán a középnyomás 30 Hgmm körüli, amely 15 Hgmm-re csökken a vénás oldalon. A kis (40-200  $\mu\text{m}$ -es) venulákban fennálló 10-14 Hgmm-es nyomás és a jobb pitvari nyomás közötti 10 Hgmm körüli grádiens alapállapotban elegendő a nagyvérköri visszaáramláshoz. Mindez mutatja, hogy a vénák alacsony nyomású rendszert alkotnak, ezért kisebb tangenciális feszültség terheli a falukat. Ezért lehet a faluk vékony, a tágulékonyág ebből fakadóan nagy, amely miatt a gravitáció hatásai sokkal kifejezettebbek, mint az artériákon. Álló testhelyzetben az alsó testfél vénáira a bennük lévő véroszlop hidrosztatikai nyomása nehezedik, amelynek értéke a 80-90 Hgmm-t is elérheti (2. ábra). A nyomásviszonyok szempontjából teljesen eltérő egymástól a felső és az alsó testfél, a nyaki vénákban az ortosztázis nyomáscsökkentő hatású. Az ilyen fokú nyomásváltozásokhoz a vénás rendszer hirtelen aktiválódó szabályozó mechanizmusa szükséges. A gyakorlatban természetesen nem használatos az átlagos szisztémás töltőnyomás (MSFP), amely azt a nyomást jelenti, amely akkor keletkezne, ha a keringést megállítva a teljes érrendszerben kiegyenlítődne a nyomás. A centrális vénás nyomást (CVP), azonban a gyógyításban is használjuk. A CVP lényegében a jobb pitvar nyomását jelenti, amely függ a vértérfogattól, a szív pumpateljesítményétől, a vénás tónustól és a prekapilláris rezisztencia erek állapotától (Bergan 2007, Groothuis és mtsai, 2008 Monos 2010, Monos 2011).



2. ábra: A hidrosztatikai nyomás értékei álló testhelyzetben (Hall 2011).

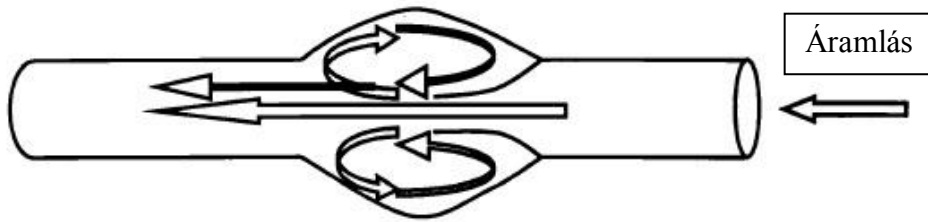
A vénás rendszeren időegység alatt ugyanaz a vérmennyiség áramlik át, mint az artériákon. Mivel a vénák összkétszertmetszete minden ponton nagyobb, mint az artériáké, az áramlás a vénákban lassú. A vénák tárolják a keringő vérmennyiség 60-70%-át, amelynek 80%-a a 200  $\mu\text{m}$  alatti vénákban található. A nagy vértérfogatra tekintettel a vénákban bekövetkező kis változás jelentős következménnyel járhat a kapacitásra és az egész keringésre nézve. A vénákban az áramlás az egyre nagyobb kaliberű erek felé történik, ezért a vénás oldal rezisztenciája jelentősen alacsonyabb, mint az artériáké (3. ábra) (Monos 2010).



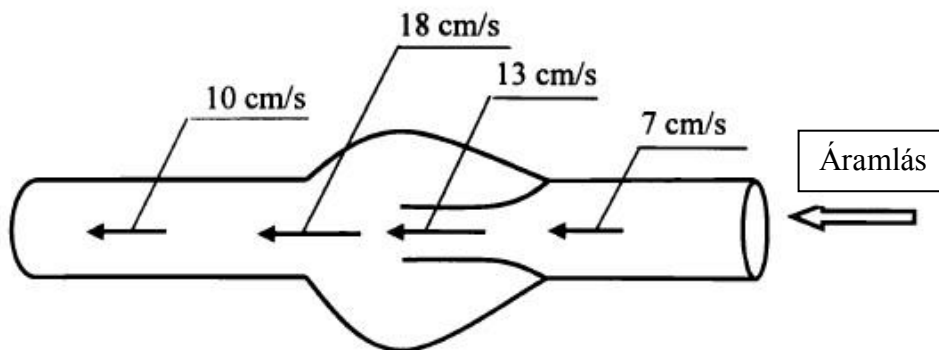
3. ábra: A kapacitás és a rezisztencia megoszlása a keringési rendszerben (Despopoulos és Silbernagl 2009).

A vénákban áramló vér egyenirányítását a billentyűk végzik. A vénákban a billentyűk bikuspidális, hártvás képletek. A fal a billentyűk magasságában tágulékonyabb, amely a megfelelő záródáshoz szükséges. Az ér átmérő ezen a területen kissé nagyobb is. A billentyű működésében négy fázist állapítottak meg: 1. nyílás szakasza, amikor a billentyű szárny közelít a falhoz, 2. equilibrium fázisa, a szárny az áramlásban lebeg, 3. záródás szakasza, a szárnyak szimmetrikusan közelítenek egymáshoz, 4. zárt állapot. Fekvő helyzetben az egyes fázisok ideje egymást követően: 0,27, 0,65, 0,38 és 0,45 másodperc. Álló helyzetben a teljes ciklus ideje hosszabb, kb. 3 másodperc. Az equilibrium szakában a közepen zajló tengelyirányú lineáris áramlástól szeparálódva egy turbulens, a szárny és a fal közé jutó áramlás képződik. Az utóbbi áramlás szerepe a zsákocskában a sztázis és a trombózis megakadályozása (4. ábra). A billentyű akkor záródik be, ha a lineáris áramlás nyomását felülmúlja a turbulens áramlás nyomása. A nyitott billentyű area szűkülete kb. 35-50%, amely az áramlás felgyorsulását, így a trombus képződés elkerülését segíti (5. ábra) (Lurie és mtsai 2003). A zsákocskában az áramlás lassú, ezért az endotél és leukocita aktiválódás megindul, de ép billentyűnél az antiinflammatorikus és antitrombotikus tényezők ellensúlyozzák.

Károsodott billentyűnél az ismertetett áramlási viszonyok miatt a trombusképződés fokozott (Boisseau 1997).



4. ábra: Jellemző áramlás irányok a billentyűknél (Lurie és mtsai 2003).

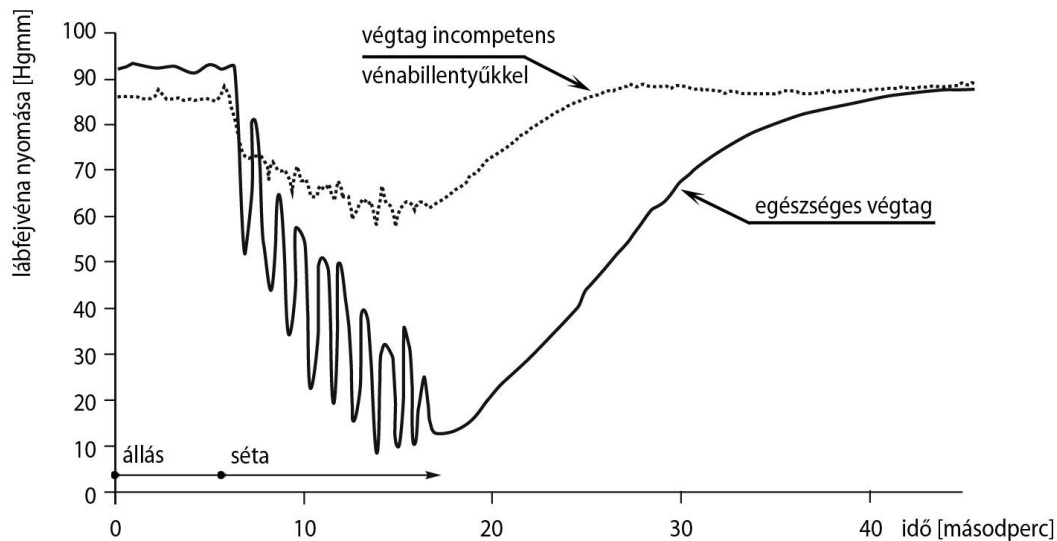


5. ábra: Jellemző áramlási sebességek a billentyűknél (Lurie és mtsai 2003).

Normál vénás funkció mellett érdemi retrográd áramlás nem alakul ki a vénákban még dilatációt vagy áramlást fokozó manőverek esetén sem (Andersson és mtsai 1996, Lagattolla és mtsai 1997). A megfigyelések szerint, mindemellett az átlag populáció 20%-ában előfordulnak insuficiens billentyűk (Boisseau 1997). A retrográd áramlás klinikai következményeinek részletes vizsgálata alapján, a reflux idejét tekintve, a lábszáron 500 ms, a combon 1000 ms hosszúságú visszaáramlás számít kórosnak mind a felületes, mind a mély vénákban (Labropoulos és mtsai 2003).

Az alsó végtagi rekeszekben az izmok összehúzódása akár 100-130 Hgmm-es nyomást okozhat az itt található mélyvénákban. Ép perforáns billentyűk esetén a vér proximális irányba préselődik, amely kompetens mélyvéna billentyűk mellett nem áramlik vissza. A billentyűk elégtelensége miatt a lábikra pumpa hatékonysága jelentősen csökken, 80%-os normál nyomáscsökkenés helyett csak 10-30%-ban tudja redukálni a lábszári vénákban a vérnyomást (6. ábra). A billentyű elégtelenség, reflux és

következményes vénás hipertónia a CVI alapjául szolgál (Bergan 2007, Bergan és mtsai 2006, Molnár és mtsai 2008a).



6. ábra: A lábikra pumpa nyomáscsökkentő hatása ép és inkompetens billentyűk esetén (Bergan és mtsai 2006).

### 1.1.2. A vénák szöveti alkotóelemei és funkciójuk

Az artériákhoz hasonlóan a vénákat is három réteg alkotja, az intima, a média és az adventicia. Az intimának két rétege van, az endotél és egy vékony kötőszövetes réteg. Az endotél sejtek szekréciós granulumokban gazdagabbak, mint az artériákban. Az endotél funkciója összetett. Elsődleges barriert képez a vér és a szövetközi tér között, a sejtes elemek és a makromolekulák átjutását korlátozza. Az endotélsejtek között intercelluláris transzport, a sejten keresztül különböző mechanizmusokkal transzcelluláris szállítás zajlik. A sejten keresztüli transzport nagyrészt vezikulumokkal történik. Az endotél felszínén számos receptor helyezkedik el, amelyek között áramlás- és nyomásviszonyokat érzékelők is vannak. A hemodinamikai információ mechanotranszdukció vagy mechanotranszmisszió útján az endotélsejtbe jut, majd válaszreakciókat vált ki. Az artériákhoz képest gyakrabban tapadnak ki fehérvérsejtek az endotél felszínéhez, a kis vénák területén a fehérvérsejtek elgördülnek a felszínen, amelyet rolling jelenségnek hívnak. Az endotélsejt sok ágenst termel, tárol, majd ürít általában a lumen felé. A billentyűket mindkét irányból endotélréteg borítja, amelyek

között egy vékony kötőszövetes váz található. Az intima külső rétege a lamina elastica interna, amely elasztikus rostok rétegeiből áll. Nagy vénáknál ez a réteg vastag, közepeseknél inkomplett, a kis vénáknál már hiányzik (Chien 2007, Michel 1996, Zupančič és mtsai 2002).

A tunica media simaizom sejtekből és kötőszöveti rostokból, elsősorban kollagénből áll. A VSM-ban a média jelentős mennyiségű simaizmot tartalmaz, ezzel tartja fenn az ér a spontán tónusát. Az alsó végtagi mélyvénákban ezzel szemben inkább a kollagén dominál, amely erőssé, de merevvé teszi a falat. Proximális irányban haladva a médiában egyre kevesebb a simaizom, a femoralis, iliaca, ill. subclavia és axillaris vénákban már alig található meg. A v. cava superior és inferior mediájában szinte már csak kötőszövet van. A média fontos szerepe a tónus fenntartása. Az artériákhoz képest jelentősebb circumferencia csökkenésre képesek a vénák, 1-2 mm-es véna lumenmentessé tud összehúzódní (Bergan 2007).

Az adventicia a vénákban a legvastagabb réteg. A médiától sokszor nehezen elválasztható, kötőszöveti rostokat, kevesebb simaizmot tartalmaz. Külső laza kötőszövetes rétege a környezethez pányvázza ki a falat, amely nagyon alacsony nyomásokon a ér nyitvamaradásáért felelős. Az adventiciában vasa vasorum és az artériáktól eltérően nyirokerek is futnak. Az alsó végtagi és mezenteriális vénák adventiciája erős szimpatikus beidegzéssel rendelkezik, amely a vér átrendeződésének szabályozásában játszik fontos szerepet (Bergan 2007).

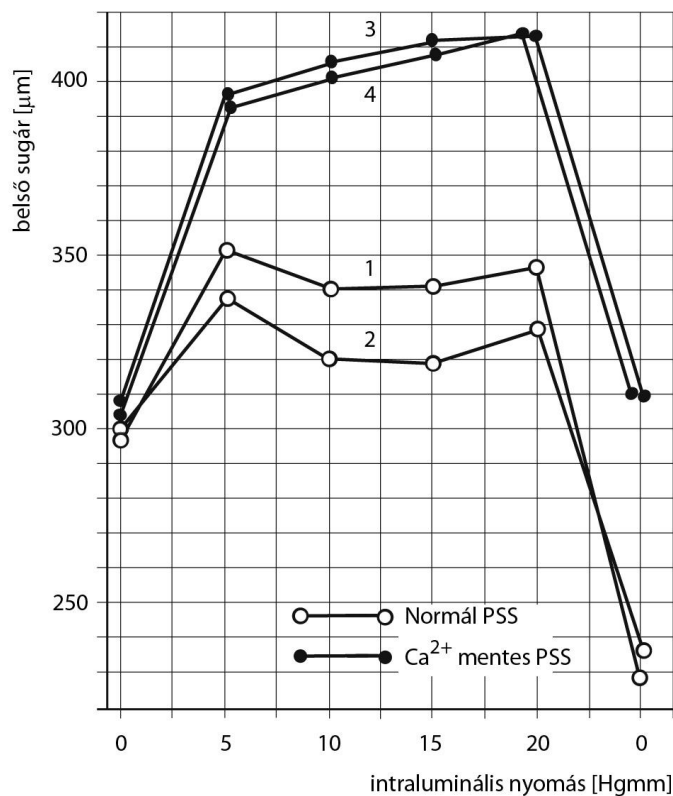
A vénákról általában elmondható, hogy az alacsony transzmurális nyomás miatt a lumenhez képest a falvastagság kicsi. Az artériákhoz képest kevesebb elasztikus elem miatt tágulékonyabbuk nagyobb.

Visszerességben a vénák szövettanában jelentős változás mutatkozik: az elasztin csökkenése, a kollagén rosttípusok arányának változása, a simaizom degenerációja és a kötőszöveti mátrix átalakulása. Patomechanizmusát a későbbiekben tárgyaljuk (Perrin és Ramelet 2011).

### *1.1.3. A vénák tágasságának akut szabályozása*

A transzmurális nyomástól függő véna tágasság részben passzív tényezőktől, fal elaszticitástól, részben aktív simaizom kontrakciótól, a miogén tónustól függ. A vénákra

jellemző, hogy a tágasság széles tartományban tud változni. A vénák disztenziibilitása alacsony nyomáson nagy, magasabb nyomásokon merevebbé válnak. Ez a tulajdonságuk az artériákéhoz hasonló, a vénáknál a két viselkedés közötti váltás, azonban alacsonyabb nyomáson figyelhető meg (Nádasy 2012). A kisebb vénákban egyértelműen kimutatható a nyomás indukálta miogén tónus, amely a vénák tágasságára egyértelmű, különleges hatással van. In vitro körülmények között az intraluminális nyomás emelésére a vénák átmérője, egy bizonyos tartományon belül változatlanak mutatkozik. A vénákban, tehát az intrinszik miogén tónus a kapacitást szabályozza (7. ábra) (Monos és mtsai 1989b).



7. ábra: Nyomás indukálta miogén válasz patkány v. saphenában in vitro. 1-2. görbe fiziológiás sóoldatban a miogén válasz egyértelmű, 3-4. görbe Ca-mentes oldatban a válasz elmarad (Monos és mtsai 1989b).

A simaizom tónuson keresztüli akut szabályozás a körfogatot regulálja, nincs hatással a falvastagságra és a hosszúságra. A vénák tágasságának akut szabályozásában számos tényező vesz részt, amelyek jórészt a miogén tónust befolyásolva fejtik ki

hatásukat. Három nagyobb csoportba oszthatók ezek a tényezők: lokális, szisztémás és celluláris szintű faktorok.

A lokális tényezők sokaságából az ionok is jelentősek. A kalcium szerepe a simaizom kontrakcióban ismert, azonban Ca-csatorna blokkolók hatása a vénákon minimális, mert neurogén mechanizmusok ellensúlyozzák. A magnézium a kalcium ismert antagonistája. A kálium szintjének enyhe emelkedése vazodilatációt, további emelkedése konstriktiót okoz. A metabolikus faktorok közül az oxigén, szén-dioxid, tejsav, pH és adenzin említendő. A pH csökkenése és CO<sub>2</sub> szint emelkedése gyengíti a kontrakciót. Az adenzin erős vazodilatátor, az adenzin-difoszfát (ADP) és adenzin trifoszfát (ATP) hatása a vénákon nem egyértelmű. A helyi hatások közül a viszkozitás és a vénabillentyűk is említést érdemelnek. A lokális mediátorok közül kiemelkedő a nitrogén-oxid (NO), amely nagyon rövid életidejű, igen erős vazodilatátor. L-argininből NO-szintáz segítségével képződik az endotél sejtben, szintézisének specifikus gátlója az L-NG-nitro-arginin-metilészter (L-NAME), amely a NO-szintáz antagonistája. A NO elsősorban az érfali simaizom sejtre hat. Vazodilatációt okozó anyagok sora (acetilkolin, angiotenzin, bradikinin, hisztamin, szerotonin, trombin) a NO felszabadulásán keresztül fejt ki hatását. A felsorolt ágensek közül néhány az endotél sérülése esetén, azaz NO hiányában vazokonstriktiót okoz. A NO további fontos szerepe még, hogy a trombociták és fehérvérsejtek endotélhez való kitapadásának gátlása révén „érvédő” hatású. A vénák endotélje kevesebb NO termelésre képes, mint az artériáké, így az endotél-függő relaxációs képességük is gyengébb (Monos 1992, Monos és mtsai 1995, Nádasy és mtsai 1988). A szervezet legerősebb vazokonstriktor ágense az endotelin (ET), hatásait a későbbiekben részletezzük.

A vénák szabályozásában résztvevő mediátorok jó része mind a lokális, mind a szisztémás faktorok közé besorolható. Az angiotenzin II (AT) esetében kimutatták, hogy vénafalban is termelődik, egyben jól ismert távolhatású hormon. Az AT-hez hasonlóan a vazopresszin is erős konstriktor ágens. A vazodilatátor tényezők közül a kalcitonin génnel összefüggő peptid (CGRP) elnyújtott hatással bír, az atriális nátriuretikus peptid (ANP) vénákon gyengébb dilatátor, mint az artériákon. Kevert hatással bír a bradikinin, amely általános vazodilatátor, de sok vénán összehúzó hatású. Hasonló módon a prosztanoidok közül a prosztaciklin vazodilatációt, a tromboxán vazokonstriktiót okoz.



A hisztamin, a szerotonin és a szomatosztatin kettős hatású ágens (Monos 1992, Monos és mtsai 1995).

A szisztémás tényezők közül az idegi szabályozó mechanizmusok igen fontosak. Az egyensúly szerv receptorai, illetve a volumen-, baro- és kemoreceptorok információi révén a központi idegrendszer jelentős változásokat hoz létre a vénák tágasságában is. A vénák adventiciájának szimpatikus beidegzésén keresztül történik a bőrben a hőszabályozás, a mezenterialis vénákban a volumen átrendeződés kontrollja, illetve testhelyzet változáskor az alsó végtagi vénák reflexes vazokonstriktója, amely a vénás visszaáramlást, a vénás nyomást és az ortosztatikus toleranciát tartja fenn (Bergan 2007, Halliwill és mtsai 1999, Krabbendam és mtsai 2008, Monahan és Ray 2004, Monos 2010, Raffai és mtsai 2010).

A celluláris tényezők közé sorolhatjuk a sejtmembrán receptorokat, a membrán tulajdonságait, a permeabilitást, a mechanikus érzékelés és transzmisszió folyamatában résztvevő sejt alkotóelemeket és a genetikai szabályozó mechanizmusokat (Monos 1992, Monos 2010, Monos és mtsai 1995).

#### *1.1.4. A vénafal és lumen krónikus szabályozása*

Folkow és Mellander már az 1960-as években felismerte, hogy a vénák legalább olyan aktív és szabályozott tagjai az érrendszernek, mint az artériák (Folkow és Mellander 1964). A vénák tágasságának krónikus szabályozásában passzív tényezők is részt vesznek. Az érfalat felépítő elemek összessége adja az érszakasz elaszticitását, amely lokalizációtól, egyéni tényezőktől, például életkortól, nemtől, genetikai különbségektől függ (Greaney és Farquhar 2011, Molnár és mtsai 2013). A fal összetételét mindemellett hemodinamikai tényezők, életmóddal összefüggő vagy független krónikus nyomásterhelés, áramlási eltérések is befolyásolják. Az elaszticitásban a kollagén-elasztin aránynak kulcsszerepe van. A kollagén kölcsönzi az érfalnak a rigiditást, egyben véd a nagy nyomással, feszültséggel szemben. Az elasztin alacsony feszültség mellett csökkenti, nagy feszültség mellett növeli a tágulékonyt. Más néven kis nyomásokon merevséget, nagy nyomásokon rugalmasságot okoz. A lumen krónikus szabályozása a nyíróerőktől függ. A vénák oszlásánál az anyaág és leányág átmérőjének viszonyában is érvényes a Murray-Rodbard szabály, amely a

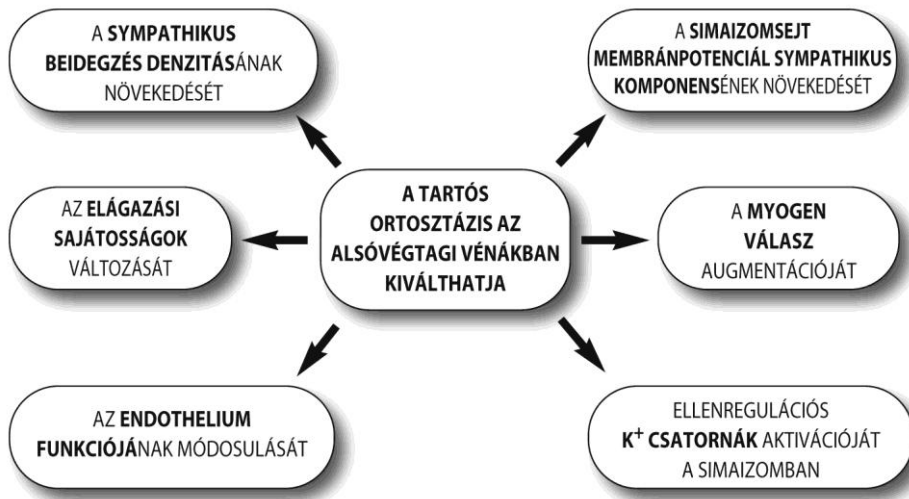
nyírás feszültség lehető legkedvezőbb alakulásának is megfelel. A szabály szerint az anyaág sugarának köbe egyenlő a leányágak sugarai köbeinek összegével (Nádasy 2012). A falvastagságot, ezzel szemben a transzmurális nyomás szabályozza. Az ép vénák falának vékonysága az alacsony nyomással és tangenciális feszültséggel hozható összefüggésbe. Példaként szolgálnak az artériás körülmények közé beültetett vénák, ahol a nagy terhelés hatására néhány hét alatt a falvastagság jelentősen megnő. A kiáramlási rezisztencia növelésével létrehozott tartós végtagi vénás nyomásnövekedés is falvastagság növekedést okozott állatkísérletes modellben (Hayashi és mtsai 2003, Monos és Csengődy 1980).

A tangenciális feszítéssel ellentétben az axiális nyújtás a simaizom sejtben hiperpolarizációt okoz. A feltételezett mechanizmus szerint a hosszanti nyújtásra az átmérő csökken, az áramlási sebesség nő, ezzel emelkedik a nyírásfeszültség, amely simaizom relaxációt és hiperpolarizációt okozó faktorok felszabadulását eredményezi, amely dilatációra vezet. Endotél hiányában depolarizáció következik be, amely endotél eredetű vazodilatátor faktorokat, valószínűleg NO hatást feltételez. Az axiális feszítésre jelentkező adaptációs mechanizmus az ér túlnyújtása esetén megfigyelhető spazmus elleni védekezést mutatja (Monos 1993, Monos és mtsai 1993). A krónikus szabályozás további mechanizmusait az 1.2.1. fejezetben részletezzük.

### *1.2. Fokozott gravitációs terhelés hatásai az alsó végtag vénás keringésére*

Az állatvilág egyik legősibb alkalmazkodási mechanizmusa a gravitációs stressz elleni védekezés. A szárazföldi állatok gravitációs terhelése kb.  $10^6$ -szor nagyobb, mint a tengerben élő állatoké. Az álló testhelyzetben lévő emberben a véroszlop hidrosztatikai nyomása tovább terheli az alsó végtag ereit, amely különösen a vénáktól követel meg hatékony alkalmazkodási mechanizmusokat (Monos és mtsai 2003a, Monos és mtsai 2007).

A gravitációs terheléshez való alkalmazkodás jelentős mechanizmusait a 8. ábra mutatja be. Az ortosztikus terhelés állatkísérletes modellezésére munkacsoportunk egy speciális ketrecet alkalmazott. A 45 fokban döntött ketrecben a patkányok csak fej-fel vagy fej-le döntött (tilt) helyzetben tudnak mozogni, az eszköz nagyszámú vizsgálat megbízható kivitelezését tette lehetővé (Monos és mtsai 2003a, Monos és mtsai 2003b).



8. ábra: Az alsó végtagi gravitációs terhelés elleni hosszú távú védekező mechanizmusok (Monos és mtsai 2003a).

Állatkísérletekben tartós ortosztatikus terhelésre a vénák lumen térfogata növekedett falvastagság növekedés nélkül, a disztenzibilitás csökkent. A megfigyelt eltérések reverzibilisnek bizonyultak. A Laplace-Frank egyenlet alapján megnövekedett falfeszültség valószínűleg a további adaptációs mechanizmusok ingere lehet. A megnövekedett átmérő mellett változatlan falvastagság a fal összmennyiségének növekedését jelenti, amelynek feltételezhetően simaizom proliferáció áll a háttérben (Monos és mtsai 1989a, Raffai és mtsai 2008).

Humán és állati vénaminták biomechanikai vizsgálatakor kiderült, hogy az emberi VSM miogén tónusa jelentősen nagyobb, mint a kutya vagy a patkány végtagjaiból származó érszegmenteké. Az emberi v. saphenában az intrinszik miogén tónus a lumenkapacitás 120%-át tudja kontrollálni, kutyában ez az érték 10% alatti (Bérczi és mtsai 1992). Állatkísérletben bizonyítást nyert, hogy ortosztatikus terhelésre a nyomás indukálta miogén tónus fokozódik, amely a simaizom sejtek hiperpolarizációjával jár együtt. A megfigyelések szerint egy hét fej-fel tilt helyzet elegendő ahhoz, hogy a hátsó lábak vénáiban az adaptációs mechanizmus kialakulhasson (Monos és mtsai 1989a, Monos és mtsai 2003a, Monos és mtsai 2007).

Humán vizsgálatok szerint a miogén tónus ellenregulálásában Ca- és feszültségfüggő K-csatornák vesznek részt, amelyek a simaizom repolarizációjára vezetnek. Ez a reguláló folyamat függ az intraluminális nyomástól. Mivel a humán v.

cephalica intrinsek miogén tónussal alig rendelkezik, feltételezhető, hogy az ellenreguláló K-csatornák sem minden régióban vannak jelen a szervezetben, csak a jelentős miogén tónussal rendelkező vénákban fordulnak elő (Monos és mtsai 2003a, Szentiványi Jr és mtsai 1997).

Kvantitatív elektron-mikroszkópos (EM) és immunhisztokémiai vizsgálatokkal kimutatható volt, hogy két hetes kísérletes ortosztatikus terhelés hatására szignifikánsan (50-90%-ban) növekedett az adventiciális szimpatikus innerváció denzitása. Mind az idegvégződés száma, mind az egyes idegvégzésekben a NE tartalmú szinaptikus vezikulum mennyisége nőtt (Monos és mtsai 2001, Monos és mtsai 2003b, Monos és mtsai 2007)

Intracelluláris mikroelektrodokkal végzett in vivo vizsgálat bizonyította, hogy két hetes fej-fel tilt helyzet után a hátsó lábak vénáiban a simaizom membránpotenciál szimpatikus komponense szignifikánsan fokozódott. Egyúttal kimutatható, hogy a szimpatoadrenerg hatások noradrenalin (NE) felszabaduláson keresztül növelik a nyomás-indukálta miogén tónust a végtagi kis vénákban (Dörnyei és mtsai 1996, Monos és mtsai 1989a, Monos és mtsai 1997).

Két hetes ortosztatikus terhelés után endoteliális vezikulumok EM vizsgálatára került sor. A képeken elektrondenz granulomok immunhisztokémiai analízis szerint ET-t és trombocita eredetű növekedési faktort (PDGF) tartalmazó szekretoros vezikulumoknak bizonyultak. A vezikulumok és az endotél sejt területének aránya az ortosztatikus terhelés után csökkent. Feltételezhető, hogy a vasoaktív ágenseket tartalmazó granulomok sűrűségének változása a gravitációs terheléssel összefüggésbe hozható és csökkenésük az endotél sejtben való termelődésük csökkenésével vagy fokozott ürülésükkel magyarázható (Monos és mtsai 2003a, Raffai és mtsai 2005).

A mikrovaszkuláris hálózatban is átalakulások figyelhetők meg hosszú távú gravitációs terhelés hatására. A hátsó lábak felületes vénáiban a hálózat számítógépes feldolgozása alapján az oszlási szögek csökkentek, az érátmérők növekedtek. Az oszlási szögek csökkenésére a vénát burkoló faszcia átrendeződése adhat magyarázatot. Egy másik vizsgálat szerint a hátsó lábak vázizmaiban a mikroerek gyakorisága mérséklődött, a kapilláris/izomrost hányados jelentősen csökkent. Magyarázatul a következő mechanizmus szolgálhat: a tartós ortosztatikus stressz hatására a vénás nyomás nő, veno-artériás reflex aktiválódik, hatására csökken a kapilláris véráramlás,

amely bizonyos kapillárisok elzáródásához vezet (Hudlicka és mtsai 1995, Lóránt és mtsai 2003).

### *1.3 Hemodinamikai terhelés klinikai vonatkozásai*

#### *1.3.1. Krónikus vénás elégtelenség és varikozitás*

A CVI és felületes formája, a visszeresség népbetegségnek számít. Az átlagos populáción végzett Edinburgh Vénás Vizsgálat a krónikus vénás elégtelenség előfordulását nőknél 7%-nak, a férfiaknál 9%-nak találta, a visszeresség gyakorisága nőknél 32%, a férfiaknál 40% volt (Evans és mtsai 1999, Lee és mtsai 2003). A Bonn Vénás Vizsgálatban a mélyvénákban észlelhető reflux gyakorisága 20%-osnak bizonyult (Maurins és mtsai 2008). Átlag populációt érintő további vizsgálatok a varikozitás előfordulását nőknél mérték magasabbnak (26-29%, férfiaknál 13-15%) (Evans és mtsai 1999). Magyarországon a visszeresség prevalenciája 50% körülre tehető (Sándor 2010). A prediszponáló tényezők közül az életkort, nemet, családi anamnézist, a terhességet és az életmódot vizsgálták behatóbban. Az életkor előrehaladtával a visszeresség gyakoriságának növekedését találták, háttérében a lábszár izomzat sorvadása, csökkent mobilitás és a vénák körüli kötőszöveti elemek csökkenése állhat. A női nem általában fokozott kockázati tényezőt jelent, bár az Edinburgh Vizsgálatban a férfiaknál volt gyakoribb a visszeresség. A terhességek számával növekszik a varikozitás valószínűsége a terhesség alatt megnövekedett testsúly és intraabdominális nyomás következtében, illetve vénás relaxációt és kapacitanciát növelő hormonok (relaxin, ösztrogén, progeszteron) fokozott hatása miatt. Több vizsgálat is bizonyította, hogy az álló munkát végzőknél szignifikánsan gyakoribb a varikozitás kialakulása, a kockázat fokozódást 1,5-2,2-szeresnek adták meg. (Acsády 1992, Benigni és mtsai 2004, Brand és mtsai 1988, Kroeger és mtsai 2004, Kroger és mtsai 2003, Lim és Davies 2009, Nemes 1986, Tuchsén és mtsai 2005). A CVI családi halmozottsága jól ismert, amelyet iker vizsgálatokkal is alátámasztottak (Brinsuk és mtsai 2004).

A gyakori előforduláson és az életminőséget nagy mértékben befolyásoló hatásán felül a CVI jelentősége abban áll, hogy a nyugat-európai országokban az

egészségügyi kiadások 2%-a a vénás betegségekkel összefügg (Evans és mtsai 1999, Lim és Davies 2009, Sándor 2010).

A CVI, az alsó végtagi vénák hosszan fennálló morfológiai és funkcionális elváltozása. Bár a primer CVI kialakulásának számos tényezője ismert, a patomechanizmust korántsem értjük teljesen. A másodlagos CVI általában mélyvénás trombózis után alakul ki. Tüneteit a CEAP klasszifikáció klinikai stádiumai mutatják be szemléletesen: C0: tünetmentes; C1: teleangiectáziák vagy retikuláris vénák; C2: visszeresség; C3: ödéma; C4: bőr hiperpigmentáció, ekcéma, lipodermatoszklerózis vagy atrophie blanche; C5: gyógyult vénás fekély; C6: aktív fekély. A C4 stádiumú varikozitás, az úgynevezett szövődményes visszeresség az összes elváltozás körülbelül 10%-a. A lábszár fekély társadalmi és klinikai jelentősége abban áll, hogy a lakosság 1%-ában kialakul, akik közül 60-80% vénás elégtelenséggel is rendelkezik (Acsády 2004, Evans és mtsai 1999, Labropoulos és mtsai 1999, Sándor 2010).

A CVI és azon belül a visszeresség patofiziológiáját széles körben kutatják. Korábban a kórfolyamat eredetét a billentyűk elégtelenségében és a következményesen kialakuló refluxban látták. Az időközben született eredmények alapján mára a fal gyengesége látszik a kiváltó oknak, amely a véna dilatációjához és másodlagosan a billentyűk elégtelenségéhez vezet. Ezt a teóriát támasztja alá az a megfigyelés is, hogy visszeresség billentyű elégtelenség nélkül is kialakulhat, illetve vénatágulat sokszor a billentyűtől disztálisan alakul ki (Lim és Davies 2009, Navarro és mtsai 2002, Wali és Eid 2001). Varikozus érszakaszok vizsgálatakor intima hiperpláziát, a kötőszöveti rostok változását, simaizom sejt eltéréseket és az extracelluláris mátrix csökkenését lehet látni. A kötőszöveti változások közül kiemelendő az elasztin csökkenése és a kollagén altípusok arányának változása. Amellett, hogy a kollagén összmenyisége konstans marad, az I. típus mennyisége nő, a III. típusé csökken. Mivel az I. típus a rigiditásért, a III. típus pedig a rugalmasságért felelős, az elasztin csökkenésével együtt a változások az érfal merevségének fokozódására vezetnek (Lim és Davies 2009, Perrin és Ramelet 2011, Sansilvestri-Morel és mtsai 2001). A simaizom sejtek visszerességben elveszítik fuziformis alakjukat, dedifferenciáltak, degenerálódnak, vakuolumok alakulnak ki bennük, akár másik simaizom sejtet is fagocitálhatnak. Kötőszöveti invázió, nagy mennyiségű kollagén rost szeparálja a sejteket egymástól, tehát nem a simaizom sejtek száma csökken, hanem a funkciójuk szenved súlyos zavart.

Visszerekből eltávolított simaizom sejtek kultúrájában szignifikánsan emelkedett proliferációt, migrációt és kollagén szintézist találtak. Mindezek az elváltozások a vénák dilatációjához, relaxációjához és a vénás tónus elvesztéséhez vezetnek. Érdekes, hogy ezek az elváltozások nem csak a láthatóan varikózus vénák területén, hanem tőlük távol is megfigyelhetők. (Perrin és Ramelet 2011, Wali és Eid 2001, Xiao és mtsai 2009). Az extracelluláris mátrix kollagén, proteoglikánok, elasztin, glikoproteinek és fibronektin strukturált hálózatából áll. Gyengülésében proteolitikus enzimek, többek között mátrix metalloproteinázok (MMP) játszanak szerepet. Vénás hipertenzió és falfeszülés MMP-2 és MMP-9 fokozott termelődésére és a kontraktilitás csökkenésére vezet. Az MMP-k aktivitását szöveti inhibitorok (TIMMP) gátolják. Az inhibitorok működési zavara, illetve a MMP-TIMMP arány felborulása is a véna funkciók károsodásához vezet. A gyulladásos folyamatoknak jelentős szerepük van a visszereesség kialakulásában és az állapot fenntartásában. A visszeres véna falában és a billentyűkben monocita/makrofág és granulocita infiltráció figyelhető meg. Következésképpen gyulladásos mediátorok és növekedési faktorok szabadulnak fel, többek között interleukin-8 (IL-8), vaszkuláris sejt adhéziós molekula-1 (VCAM-1), intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1), transzformáló növekedési faktor  $\beta$  (TGF- $\beta$ 1), fibroblaszt növekedési faktor  $\beta$  (FGF- $\beta$ 1) és vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF). A gyulladásos folyamat ezután önmagát tartja fenn, tartós károsodást okozva a véna falában és a billentyűkben. A gyulladásos mechanizmusok között az oxigén szabadgyökök fokozott képződése is szerepel. A NADPH oxidáz által képzett szuperoxid produktumok a NO bioaktivitását csökkentik, ezzel akadályozva meg a NO vazoprotektív hatását (Atta 2012, Bergan és mtsai 2008, Lim és Davies 2009, Perrin és Ramelet 2011, Takase és mtsai 2004).

A primer varikozitás patomechanizmusában az apoptózis is szerepet játszik. Visszeres szegmentek vizsgálatánál rendezetlen szövettani szerkezetet lehet apoptotikus jelenségekkel együtt megfigyelni (Ducasse és mtsai 2008). Fokozott vénafal feszüléskor a vasa vasorum kompressziója miatt a fal külső rétegei hipoxiát szenvednek. A hipoxia kimutatottan VEGF és egyéb mediátor termelését és áttételesen MMP-ok expresszióját váltja ki, amely a már részletezett utakon vezet a vénafal károsodásához (Atta 2012, Lim és mtsai 2011)

Érdekes jelenség a vénák megtöretése, amely a visszereesség kialakulásában is valószínűleg szerepet játszik. Adott hosszanti feszülés mellett egy érszakasznál

kimutatható az a kritikus nyomás, amelyen az ér megtörik. A kritikus nyomás nagysága, tehát a megtörtetés bekövetkezése jelentősen függ az érfal állapotától és az axiális feszüléstől (Martinez és mtsai 2010).

Vénás hipertenzió hatására a kapillárisokban is megnő a hidrosztatikai nyomás. A megváltozott véráramlás miatt a kapilláris endotélhez leukocita adhézió indul meg, amely a gyulladós kaszkád bevezető lépése. Ezt követően nyílnak meg az endotél sejtek közötti nyílások a makromolekulák és a vörösvérsejtek számára is, amely intersticiális ödémára és infiltrációra vezet. A bőr esetében a szövetközi térbe került vörösvérsejtek degradációs termékei és különböző proteinek a leukociták migrációját okozzák, amely a gyulladós kaszkád beindulására vezet. A hemosziderin lerakódása hiperpigmentációt, a gyulladás fennállása ekcémát, a fibroblasztok aktiválódása lipodermatoszklerózist okoz. A folyamatok előrehaladtával alakul ki a vénás fekély (Caggiati és mtsai 2006, Perrin és Ramelet 2011).

A tünetes CVI felében a reflux mellett proximális obstrukció is fennáll, mindkettő jelenlétében a klinikai tünetek általában súlyosabbak. Törekedni kell a centrális lézió felismerésére, mert megoldása reflux mellett is a tünetek számottevő javulására vezetnek (Neglén és mtsai 2003).

### *1.3.2. Vénák viselkedése artériás körülmények között*

Artériás szűkületek és elzáródások megoldására alkalmazott nyitott műtétes megoldások közül az áthidalásokat hosszú ideje alkalmazzuk. Leggyakrabban perifériás artériás betegségben végzünk hosszú áthidalásokat, amelyek közül a VSM-ból képzett a legtartósabb. Térd fölé vezetett vénás femoro-popliteális bypassok öt éves nyitva maradása 65-75%, térd alá vezetve 65% körüli. Műérrel végzett hasonló térd fölötti áthidalások öt évig 45-60%-ban, a térd alatt 35%-ban maradnak nyitva (Acsády és Nemes 2001, Nicholson és Scott 2009). Az artériás bypassok elzáródásának oka a beáramlás vagy a kiáramlási pálya elégtelensége mellett a graft károsodása lehet. Az artériás körülmények között áthidalásként használt vénák átalakulásáról sok ismeret halmozódott fel, de azt nem tudjuk megmondani biztosan, hogy a beültetett vénák közül melyik fog károsodni és azt hogyan lehetne kivédeni (Molnár és mtsai 2010).



Törekedni kell jó minőségű graft beültetésére. A műtétkor már fennálló körülírt léziók a hemodinamikai terhelés hatására létrejövő átalakulásokban szűkületekké válhatnak, amely a graftelzáródás egyik fő oka. Kompetens és inkompetens v. saphena szegmenteket vizsgálva megállapítható volt, hogy a kompetens véna elasztin és III-IV. típusú kollagén tartalma a nagyobb és elasztikus modulusa a kisebb. A kompetens véna tulajdonságai közelebb állnak a fogadó artériák biomechanikai tulajdonságaihoz, ezért áthidalásként alkalmazva jobbak az eredmények, mint az inkompetens vénákkal (Krasinski és mtsai 2010, Owens 2010). A véna a kipreparálás és beültetés során is károsodhat. Billentyű roncsolóval a billentyűk mellett az intima egyéb területeken is károsodhat, túlzott nyomáspróbával endotél leválás jön létre, az érfal iszkémiás károsodása is bekövetkezhet. Bár az óvatos sebészi ténykedés ajánlatos, de önmagában nem tudja megakadályozni a vénás graft kóros átalakulását. Kísérletek bizonyítják, hogy a vénán észlelt elváltozások reverzibilisek, ha a graftot vénás környezetbe visszaültetik (Davies és mtsai 1999, Fann és mtsai 1990, Golledge 1997).

Artériás körülmények között a vénák jelentős átalakuláson mennek keresztül. Ez az átalakulás a vénagraft dinamikus strukturális és biokémiai adaptációjában és ennek következtében a lumen kaliber, a falvastagság és összetétel hosszú távú átalakulásában határozható meg (Berard és mtsai 2013, Monos és Csengődy 1980, Owens 2010, Stooker és mtsai 2003). A vénás graftot ért hemodinamikai terhelés legfőképp az áramlásból fakadó nyírófeszültségből és az intramurális nyomással összefüggő tangenciális feszültségből áll. A nyírófeszültségnek a lumen szabályozásában van elsődleges szerepe. A vénagraft belső átmérőjének növekedésével a hemodinamika szabályai szerint a nyírófeszültség a normál tartományba tud visszakerülni. A magas intramurális nyomás hatására megfigyelhető falvastagság növekedéssel a tangenciális feszültség normalizálódik a Laplace-Frank egyenletnek megfelelően. A médiát érintő falvastagság növekedés elmarad, ha szoros külső támasztással látjuk el a vénagraftot, amely a falfeszülés oki szerepét igazolja. A vénagraft átalakulásnak két jelentősebb fázisa különíthető el. Az első hónapban a lumen átalakulása, az ezt követő hónapokban a falvastagság és a merevség növekedése figyelhető meg. Humán v. saphenán végzett vizsgálatok alapján megállapították, hogy 50 Hgmm-es intraluminális nyomás felett az ér teljesen disztendált, de kontrakcióra képes marad (Golledge 1997, Jacot és mtsai

2004, Kohler és mtsai 1989, Owens 2010, Owens és mtsai 2006, Rusch és mtsai 1995, Skelly és mtsai 2001).

Az ereket érő károsító tényezők egy általános válaszreakciót, az intimális hiperpláziát (IH) váltják ki, amelyet Alexis Carrel írt le először 1906-ban. A folyamatban a simaizom sejtek kulcsszereppel bírnak, proliferációjuk során nyugodt, kontraktilis sejtekből szintetizáló, migráló fenotípusúakká válnak. Az extracelluláris mátrix átalakítása által az intima és média fibrózist, a sejtes alakok számának csökkenését, a véna merevebbé válását okozzák. A vénagraft falában proliferáló monociták és makrofágok mutathatók ki. A leukociták citokineket és oxigén szabadgyököket szabadítanak fel, amely a folyamat gyulladásos jellegét mutatja. Képzővizsgálatokkal megfigyelték, hogy magas C-reaktív protein (CRP) értékkel bíró pácienseknél a vénás graft átalakulása kevésbé kedvezően alakult, mint a normál CRP-vel rendelkezőknél. Az endotélsejtek a folyamat ellenregulálásáért felelősek, eltávolításuk az IH fokozódására vezet. A NO gátolja a leukocita adhéziót, a simaizom sejt proliferációt és migrációt. A prosztoglandinok közül a prosztaciklin is védő hatású, simaizom relaxációt okoz, illetve a trombociták adhézióját és aktiválódását csökkenti. Ezzel szemben a PDGF és a fibroblaszt növekedési faktor a simaizom sejt migrációt és proliferációt serkenti. Az IL-1 pro-inflammatorikus ágensként szerepel, szintje a graft beültetés után röviddel megemelkedik. Adhéziós molekulák expresszáldását elősegíti, fokozza a koagulációt, stimulálja a simaizom sejtek proliferációját és migrációját. (Golledge és mtsai 1997, Jiang és mtsai 2004, Osterberg és Mattsson 2005, Owens és mtsai 2008, Tanner és mtsai 2004).

A graftok nyitva maradásának alapfeltétele a megfelelően kontrollált adaptáció és IH. Alacsony nyírásfeszültségű területeken trombocita és leukocita adhézió, citokinek és növekedési faktorok felszabadulása alakul ki, amely tartósan provokálja IH képződését. Hasonló jelenség zajlik le az oldalon a véghez anasztomózisoknál, ahol a nyírásfeszültség az anasztomózis vonalban, illetve a könyöknél és a csúcson alacsony. Graftok szűkületeinél, ahol a nyírásfeszültség kórosan magas, az intima vastagodás folyamatos ingere áll fenn, amely a folyamat progressziójára, majd a graft elzáródására vezethet. (Golledge 1997, Osterberg és Mattsson 2005, Owens 2010)

## 2. Célkitűzések

A vénák akut hemodinamikai stresszhez való alkalmazkodásáról jelentős ismeret halmozódott fel. A vénák elsődleges szerepe a kapacitás szabályozása, amelyet az intraluminális nyomás kísérletes körülmények között való emelése ellenére változatlan érátmérő is igazol (Monos és mtsai 1989b). Emberben is a vénák egyik legfontosabb funkciója a keringő volumen akut szabályozása, azonban a tartós ortosztatikus terhelés humán vénákban jelentkező hosszú távú következményeiről átfogó vizsgálati eredmény kevésbé áll rendelkezésre.

A különböző krónikus hemodinamikai terhelés alatt álló vénák biomechanikai jellegzetességeivel nagyszámú vizsgálat foglalkozott, de a tulajdonságok összehasonlító elemzését csak részletekben találjuk a szakirodalomban. Ismeretes, hogy hosszú távon a falvastagságot az intraluminális nyomás, az érátmérőt a nyíróerő szabályozza (Hayashi és mtsai 2003, Nádasy 2012). Általánosságban igaz, hogy az alsó testfélen a vénák fala vastagabb, mint a felső testfélen, illetve az artériás pozícióba beültetett vénás áthidalások falvastagsága néhány hét alatt jelentősen megnő (Eiken és Kolegård 2004, Monos és Csengődi 1980). A vénák elasztikus tulajdonságairól tudjuk, hogy tágulékonyabbak, mint az artériák és az intraluminális nyomás emelkedésével merevebbekké válnak (Nádasy 2012). Állatkísérletben és humán vizsgálatban bizonyítást nyert, hogy tartós nyomásterhelésre a vénák disztenziibilitása csökken (Kolegård és Eiken 2011, Monos és mtsai 1989a). A kontraktilitást tekintve korábbiakban kimutattuk, hogy a humán v. saphena jelentős, míg a v. cephalica elhanyagolható miogén válaszkészséggel bír (Szentiványi Jr és mtsai 1997). Mindezek alapján kísérletes munkánkban különböző érterületek tulajdonságainak átfogó elemzésével a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Hogyan viszonyulnak egymáshoz a hemodinamikai stressznek különbözőképpen kitett humán vénák passzív és aktív biomechanikai tulajdonságai?
2. Az észlelt biomechanikai különbségek értelmezhetők-e a gravitációs terheléshez való alkalmazkodásként?
3. A szöveti elemek szintjén kimutatható különbségek összhangban vannak-e az észlelt biomechanikai eltérésekkel?

Munkacsoportunk egy korábbi állatkísérletében elektron-mikroszkóppal endoteliális szekretoros vezikulumokat vizsgált. Ezeknek az elektrondenz vezikulumoknak az endotélsejt területéhez viszonyított területe krónikus gravitációs terhelésre csökkent. A megfigyelt változást a terhelés következményének, a vénák alkalmazkodásának egy részjelenségének tartottuk (Raffai és mtsai 2005). Emberi vénák endotéljében található hasonló vezikulumok sűrűségéről és geometriájáról a szakirodalomban elenyésző ismeret áll rendelkezésre. Elektron-mikroszkópos vizsgálatainkkal ezen vezikulumok tulajdonságait kutattuk, amely során az alábbi kérdések merültek fel:

4. Az emberi vénákban milyen sűrűségben található az állatkísérletekben látott endoteliális szekretoros vezikulumok?
5. Különböző-e a hemodinamikai stressznek különbözőképpen kitett vénák vezikulumainak sűrűsége?
6. Van-e eltérés a különböző területekről származó vénák vezikulumainak geometriájában?

### 3. Módszerek

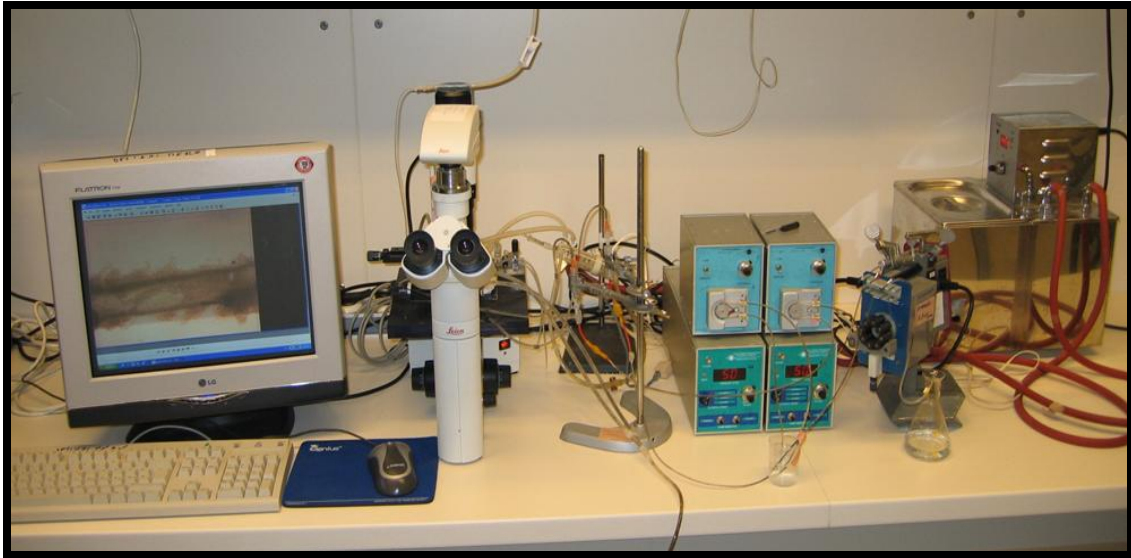
#### 3.1. Humán vénák biomechanikai tulajdonságai

##### 3.1.1. Betegek, érminták

A vizsgálat megkezdése előtt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásügyi Bizottságától (ETT TUKEB) kutatási engedélyt nyertünk (No. 22583-0/2010-1018EKU). Minden páciens, aki részt vett a vizsgálatban, megfelelő szóbeli és írásbeli tájékoztatás után a beleegyező nyilatkozatot aláírta. Beválasztási kritériumaink a következők voltak: 45 és 65 év közötti életkor; 25 és 35 közötti Body Mass Index (BMI); krónikus veseelégtelenség hiánya; kötőszöveti betegség hiánya; a terület, ahonnan a mintát eltávolítottuk korábban műtéten vagy besugárzáson nem esett át; az adott végtagot jelentősebb trauma korábban nem érte; CVI, ill. ödéma nem állt fenn. Minden műtét során, a mechanikus sérülést kerülve, egy 8-10 mm hosszú és 1-2 mm átmérőjű felületes vénát távolítottunk el. Tizenegy mintát vettünk a nyaki régióból, amelyek carotis műtét során a műtéti területen látható v. jugularis externa ágak voltak. A tizenegy lábszári minta alsó végtagi artériás rekonstrukció vagy koszorúér bypass műtét során látótérbe került v. saphena magna oldalágak voltak. Az érmintákat azonnal szobahőmérsékletű Krebs-Ringer élettani sóoldatba (nKR) helyeztük.

##### 3.1.2. In vitro biomechanikai vizsgálatok

A főlegesen kötőszöveti elemek eltávolítása és az oldalágak lekötése után az érszakaszok mindkét végét kanüláltuk (500 $\mu$ m-es üveg kanüllel), majd az in vitro nyomás-angiométer szervfürdőjébe helyeztük. A minták képeit inverz mikroszkóp (Leica), digitális kamera (Leica DFC 320) és a Qwin kép analízáló programmal (Leica) ellátott számítógép segítségével rögzítettük. Az átmérőket a monitor képének kimerevítése után az érminták falának külső és belső kontúrjainak bejelölésével mértük. A kalibrációt higanyos manométerrel és Wild mikrométer etalonnal végeztük. Az intraluminális nyomásokat szervo-kontrollált pumpákkal állítottuk be (Living Systems, Burlington, VT, USA). (9. ábra)



9. ábra: Digitális nyomás angiográfiához alkalmazott berendezések

Az *in vitro* vizsgálatokhoz használt nKR oldat összetétele (mmol/l): NaCl 119, KCl 4,7, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2, MgSO<sub>4</sub> 1,17, NaHCO<sub>3</sub> 24, CaCl<sub>2</sub> 2,5, glukóz 5,5, etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) 0,034. A Ca<sup>2+</sup>-mentes Krebs oldat (Ca-mentes KR) tartalma (mmol/l): NaCl 92, KCl 4,7, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,18, MgCl<sub>2</sub> 20, MgSO<sub>4</sub> 1,17, NaHCO<sub>3</sub> 24, glukóz 5,5, etilén-glikol-tetraecetsav (EGTA) 2, EDTA 0,025. Az oldatok hőmérsékletét 37° C-on tartottuk és 5% CO<sub>2</sub>-ot, 20% O<sub>2</sub>-t, 75% N<sub>2</sub>-t tartalmazó gázzal buborékolattuk át, amely a pH-t 7,4-es értéken stabilizálta. A NE-t, az acetilkolint (Ach) és az L-NAME-t a Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA és Budapest) vállalattól szereztük be.

Az érszakaszokat 30 percig 10 Hgmm-es intraluminális nyomáson inkubáltuk, majd nyomás-átmérő jelleggörbéket vettünk fel 2 és 30 Hgmm közötti nyomásokon, agonista hozzáadása nélkül nKR oldatban. Ezt követően 10 μM NE hozzáadása és 10 perc inkubáció után vizsgáltuk a maximális kontrakciót. A NE mellé 10 μM Ach-t adtunk az endoteliális dilatáció felmérésére. A relaxáció NO-tól függő komponensének tesztelésére 100 μM L-NAME-t adtunk a szervfürdőbe, majd a jelleggörbéket ismételtén felvettük. Ezt követően a passzív, simaizom tónustól független biomechanikai méréseket Ca mentes környezetben (Ca-mentes KR) végeztük el. A kétszer tizenegy mintán végzett összes mérés száma meghaladta az ezerötszázat. Mindegyik mérésünk lezajlott a mintavételt követő 10 órán belül.

A külső ( $r_o$ ) és belső sugár ( $r_i$ ), illetve a falvastagság ( $h$ ) számításait a mért átmérőkből végeztük. A tangenciális feszültséget a  $\sigma = p \cdot r_i / h$  képlet alapján (Laplace-Frank egyenlet) számítottuk ki, ahol  $p$  az intraluminális nyomás. A disztenziabilitást és az elasztikus modulust a nyomás-sugár karakterisztikák alapján a következő egyenletek felhasználásával számoltuk ki:

$$D = (r_{i2}^2 - r_{i1}^2) / (\Delta p \cdot r_{i1}^2),$$

ahol  $r_{i1}$  és  $r_{i2}$  a belső sugár a nyomásváltozás ( $\Delta p$ ) előtt és után, illetve

$$E_{inc} = (2r_i^2 \cdot r_o / (r_o^2 - r_i^2)) \cdot (\Delta p / \Delta r_o)$$

ahol  $\Delta r_o$  a külső sugár változása a nyomásváltozás hatására. Képletünk az inkrementális modulus számítására ad lehetőséget. A kontrakciót a külső sugár változásából számítottunk ki, amelyet az azonos nyomáson, de teljesen relaxált állapotban (Camentes KR) mért külső sugárhoz viszonyítottunk. Az L-NAME hatást a külső sugár %-os csökkenése határozta meg.

### 3.1.3. Statisztikai analízis

Az adatokat átlag  $\pm$  átlag szórása alapján határoztuk meg. Két szempontos variancia analízis tesztet és Tukey posthoc tesztet alkalmaztunk a geometriai, elaszticitási és kontraktilitási paraméterek összehasonlításához.

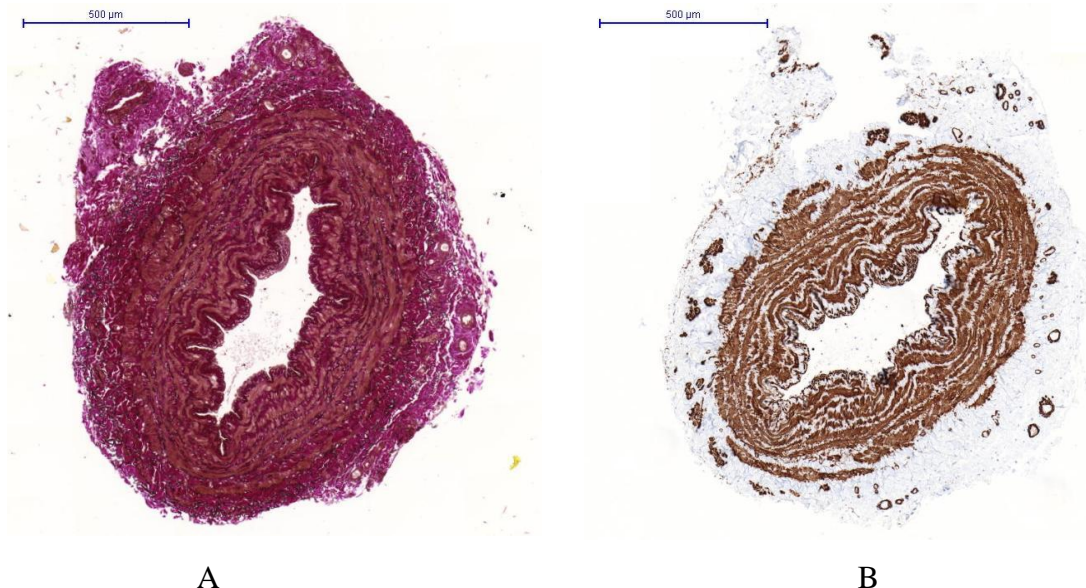
## 3.2. Emberi vénák szövettani elemzése

### 3.2.1. Betegek, érminták

A kutatásetikai engedéllyel és beleegyező nyilatkozattal kapcsolatos tevékenységek, illetve a páciensek beválasztási kritériumai, a műtétek típusai és a minták vétele a 3.1.1. alfejezetben leírtaknak teljes mértékben megfeleltek. Nyolc nyaki és hét lábszári véna szegmentet távolítottunk el, amelyeket feldolgozásukig pufferoztunk 4%-os formaldehidben tároltunk.

### 3.2.2. Hisztokémiai és immun-hisztokémiai vizsgálatok

Az elasztikus membrán megfestéséhez rezorcin-fukszint alkalmaztunk, a simaizom kimutatásához simaizom aktin (SMA) immun-hisztokémiai festést végeztünk. Az immun-hisztokémiai reakciókat 5 µm-es paraffinos metszeteken végeztük. A paraffin mentesítés minden metszet esetében azonos módon történt: xilénnel való kétszer 10 perces kezelés után etanol higítási sort alkalmaztunk (96%, 75%, 50%) egyenként 5 percig, majd foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldattal (PBS) való mosást végeztünk. Az antigének felfedésére speciális oldatot (Vector Laboratories) használtunk 6 percig, majd monoklonális antitesteket (DAKO) alkalmaztunk. A vizualizáláshoz standard háromlépéses streptavidin-peroxidáz rendszert használtunk. A reakciókhoz Ventana ES automatikus immunfestő rendszert (Ventana Medical System, Inc.) alkalmaztunk, a reagenseket a gyártó biztosította. A metszetek hematoxilinnal való ellenfestését is elvégeztük. A gyártó által javasolt módon pozitív kontrollt végeztünk ismertén reagáló szövettel. A primer antitest kihagyásával a negatív kontroll is minden esetben megtörtént. (10. ábra).



10. ábra: A: Rezorcin fukszin és B: SMA immunhisztokémiai festéssel készített minta



### 3.3. Vezikulumok sűrűsége az endotélben

#### 3.3.1. Betegek, érminták

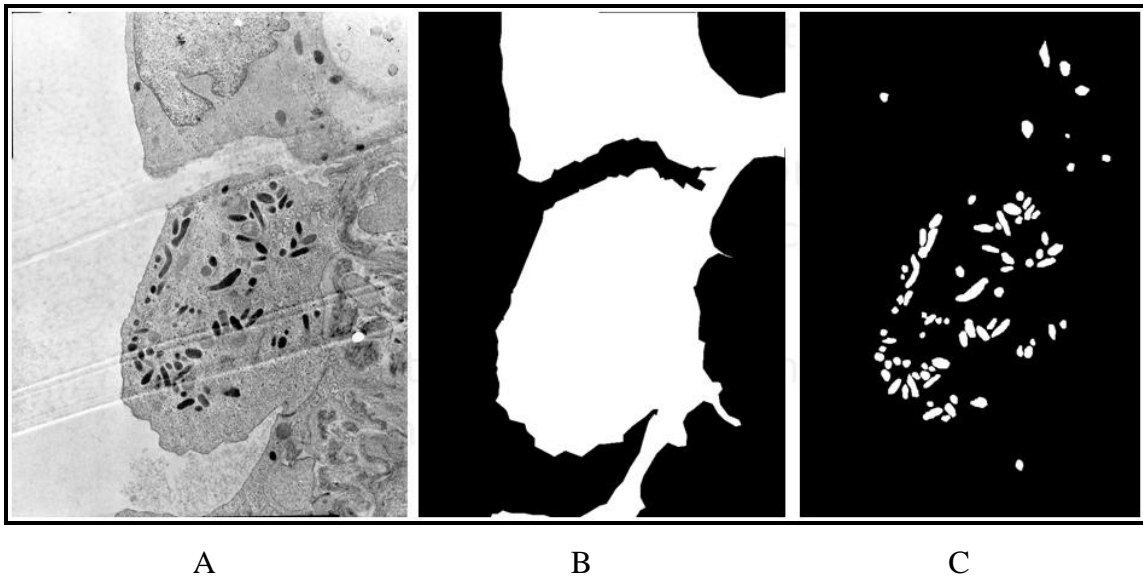
Ehhez a kísérlet sorozatunkhoz is az engedélyt a Semmelweis Egyetem Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága adta (No. 76/2005). A vizsgálatban résztvevő minden páciens gondosan tájékoztattunk szóban és írásban, akik a beleegyező nyilatkozatot aláírták. Az eredetileg is tervezett sebészeti beavatkozáshoz képest a 2 mm-nél kisebb vénát tartalmazó szövet eltávolítása minimális plusz terhelést jelentett a pácienseknek. A kizárási kritériumok a következők voltak: 20 év alatti életkor; korábbi műtét hege vagy irradiáció a jelen beavatkozás területén; kiterjedt visszernesség az érintett végtagon. A műtétek során 8-10 mm hosszú, 1-2 mm átmérőjű felületes vénát távolítottunk el különös figyelmet fordítva a mechanikai sérülés elkerülésére. A felső végtagi mintákat az alkarról hemodialízis fisztula készítés közben metszettük ki. Az alsó végtagi szegmentumokat a lágyékból vagy a lábszárról távolítottuk el artériás rekonstrukció során. Összesen 25 érszakaszt metsztünk ki 25 betegből, 10 mintát a felső végtagból és 15-öt az alsó végtagból. Az alsó végtagi mintákat további két alcsoportra osztottuk, 7 vénát távolítottunk el a lágyékból, míg 8-at a lábszárból.

#### 3.3.2. A vezikulumok elektron-mikroszkópos és kvantitatív analízise

Eltávolításuk után a mintákat azonnal 20 %-os szukrózt tartalmazó, 4 °C-os foszfát-pufferolt oldatba helyeztük. Átöblítést követően a posztfixálást 2%-os OsO<sub>4</sub>-gyel elvégeztük, majd a mintákat alkoholos sorozattal dehidráltuk és Epon 812-be ágyasztuk. Félvékony metszeteket készítettünk 0,5%-os toluidinkékkal (pH 8,5) a vizsgálat számára fontos területek kijelölése érdekében. Ezután ultravékony szeleteket készítettünk, amelyeket uranil-acéttal és ólom-citráttal festettünk meg. A kiértékeléshez Philips CM 10 elektron-mikroszkópot használtunk.

Az endoteliális vezikulumok mennyiségi meghatározásához az elektron-mikroszkópos képek morfometriás analízisét végeztük el. A mintákból egy és húsz közötti elektron-mikroszkópos kép készült 2500-szoros és 25000-szeres nagyítás

tartományban. A képeket digitalizáltuk és vak módszerrel, számítógépes képanalizáló IMAN (beta) 2.0 (MFA, Budapest) programmal elemeztük ki. Az endotél sejt vagy sejtek és az elektrondenz vezikulumok kontúráját körberajzoltuk, amely meghatározta az endotél sejt és a vezikulumok területét (11. ábra). A vezikulumok és az endotél sejtek összterületének hányadosaként számítottuk ki a vezikulumok sűrűségét minden egyes képnél, illetve összesítve minden betegnél. Közel kétszáz elektron-mikroszkópos képet dolgoztunk fel ezzel a módszerrel.



11. ábra: A: Kis véna luminális felszíne, 4000-szeres nagyítása, B: Endotél területe a kijelölés után, C: A vezikulumok területe a kijelölés után

### 3.3.3. Statisztikai elemzés

A vezikulum denzitást átlag  $\pm$  átlag szórása alapján adtuk meg. A vizsgált csoportokat ANOVA variancia teszttel hasonlítottuk össze, ahol  $p < 0,05$  számított statisztikailag szignifikáns különbségnek.

### 3.4. Vezikulumok geometriája az endotélben

#### *3.4.1. Betegek, érminták*

A kutatásetikai engedély és beleegyező nyilatkozat, illetve a páciensek beválasztási kritériumai, a műtétek típusai és a minták vétele a 3.3.1. alfejezetben leírtakkal teljes mértékben megegyeztek. Öt felső végtagi és hét lábszári érmintát vizsgáltunk meg a vezikulumok geometriája szempontjából.

#### *3.4.2. Geometriai vizsgálatok*

A 3.3.2. alfejezetben részletezett módon elkészített elektron-mikroszkópos képeket digitalizáltuk és az Image J képanalizáló programmal megmértük a vezikulumok metszetének rövid és hosszú átmérőjét. Összesen 2540 vezikulumot vizsgáltunk meg ezzel a módszerrel. Külön a lábszárból és a karból származó vezikulumok hosszú és rövid átmérő szerinti megoszlását színekódolt diagramban határoztuk meg. A lábszári és kar vezikulumok hosszú és rövid átmérő szerinti megoszlásainak különbségét is színekódolt diagramban összegeztük.

#### *3.4.3. Statisztikai analízis*

A vezikulumok metszeteinek rövid és hosszú átmérőit a lábszári vagy kar eredetnek megfelelően két csoportba összesítettük. A két csoport ellipticitás hányadosait (hosszú átmérő osztva a rövid átmérővel)  $\chi^2$  teszttel hasonlítottuk össze. Összesen 2540 granulum rövid- és hossz tengelyének gyakorisági megoszlásait 3D diagramokban vetettük össze.

#### 4. Eredmények

A négy vizsgálatban az érminták vételének helyét és a minták számát az 1. táblázatban összegeztük. A betegek és a minták száma azonos volt, minden betegből egy érszakaszt távolítottunk el.

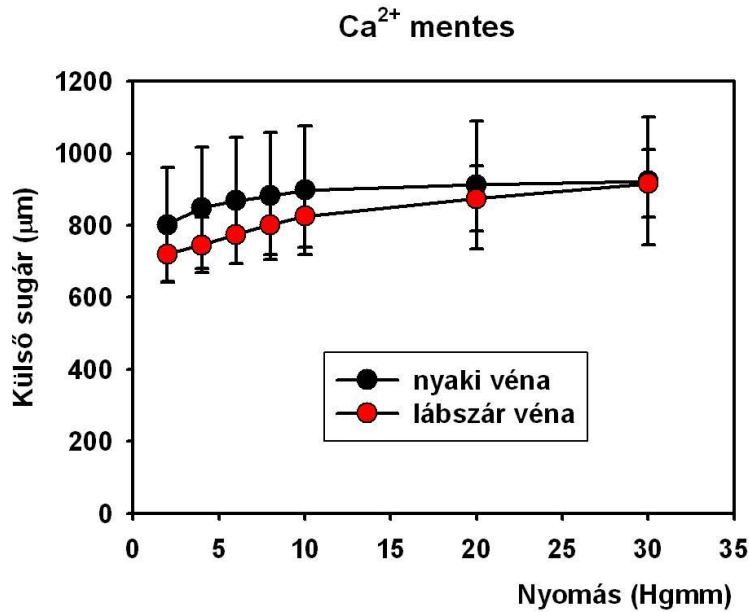
Vizsgálat	Mintavétel helye		Érminták száma	
In vitro biomechanika	Nyak		11	
	Lábszár		11	
Szövetteni elemzés	Nyak		8	
	Lábszár		7	
Vezikulum sűrűség	Felső végtag		10	
	Alsó végtag	Lágyék	15	7
		Lábszár		8
Vezikulum geometria	Felső végtag		5	
	Lábszár		7	

1. táblázat: A mintavétele helye és az érminták megoszlása az egyes vizsgálatokban.

#### 4.1. Különbség a nyaki és lábszári vénák biomechanikájában

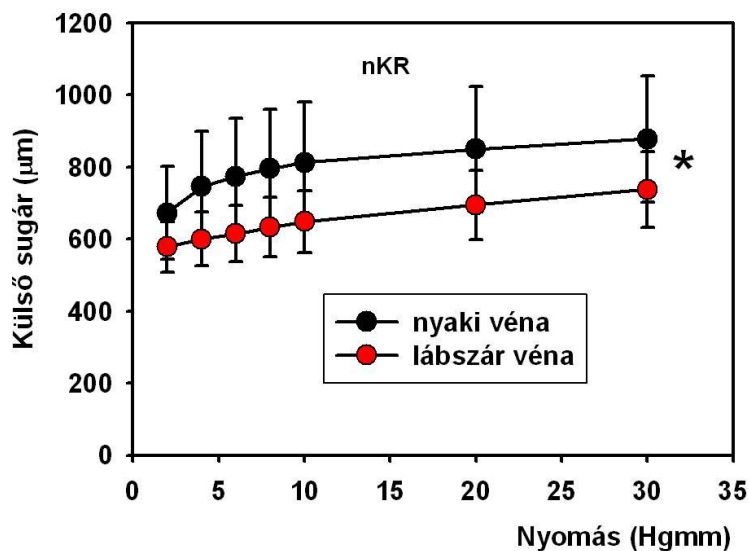
##### 4.1.1. Geometria

A nyaki és lábszári régióból eltávolított minták relaxált (Ca-mentes KR) állapotban mért külső sugara szinte megegyezett (30 Hgmm-es nyomáson  $923 \pm 178 \mu\text{m}$  a nyaki szegmentumoknál,  $916 \pm 94 \mu\text{m}$  a lábszáriaknál), (12. ábra).



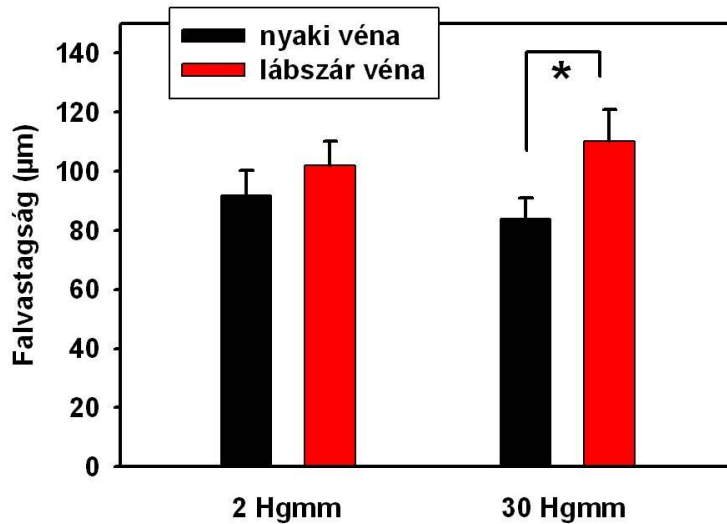
12. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Külső sugár intraluminális nyomás összefüggése Ca-mentes oldatban. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízis, nem szignifikáns.

A lábszári vénák nagyobb spontán tónusa miatt, a nKR oldatban vizsgált külső átmérők szignifikáns különbséget mutattak ( $p < 0,05$ , 30 Hgmm-en  $878 \pm 176 \mu\text{m}$  a nyaki és  $737 \pm 105 \mu\text{m}$  a lábszári minták esetében), (13. ábra).



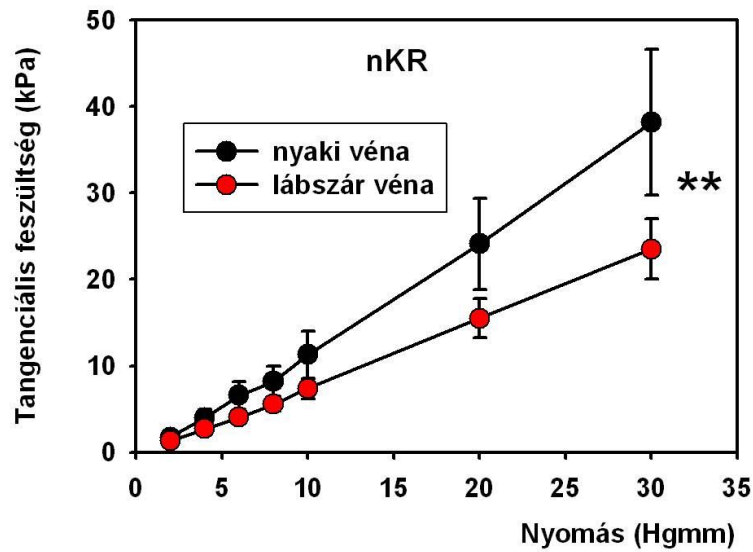
13. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Külső sugár intraluminális nyomás összefüggése nKR oldatban. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízis, \*  $p < 0,05$ .

A lábszári minták falvastagsága szignifikánsan nagyobbak bizonyult nKR oldatban (30 Hgmm-en  $84\pm 7\ \mu\text{m}$  a nyaki és  $110\pm 11\ \mu\text{m}$  a lábszári mintákban,  $p<0.05$ ), (14. ábra).



14. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák falvastagsága nKR oldatban 2 és 30 Hgmm nyomáson. Variancia analízis és Tukey posthoc teszt, \*  $p<0,05$ .

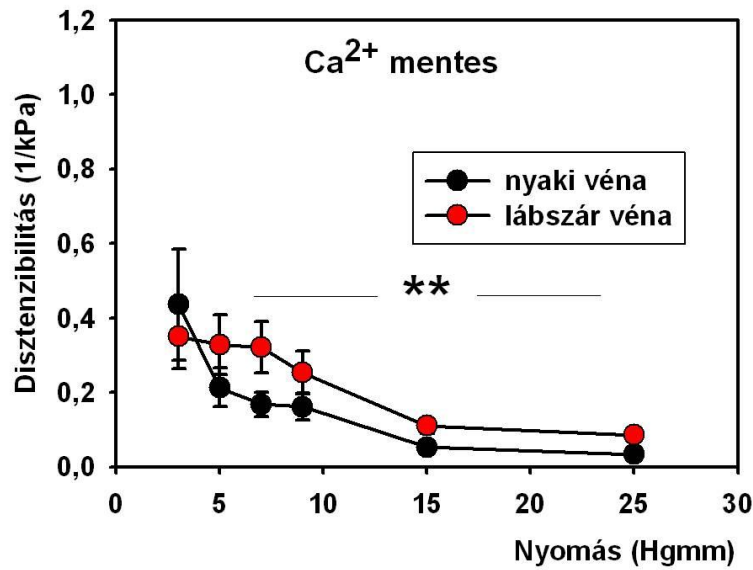
Az átmérő és falvastagság értékekben észlelt számottevő különbségek miatt az izobárikus falfeszültségben is jelentős eltérést találtunk, a lábszári mintákban értéke szignifikánsan alacsonyabb volt ( $p<0,005$ , nKR oldatban 30 Hgmm-en 38,8 kPa a felső testféli és 24,4 kPa az alsó testféli mintákban), (15. ábra). A valóságban a falfeszültség különbség a két terület között kisebb a nyaki vénákra nehezedő jelentősen alacsonyabb fiziológiás nyomások következtében.



15. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Izobárikus tangenciális fal feszültség intraluminális nyomás összefüggés nKR oldatban vizsgálva In vitro angiográfia. Két szemponos variancia analízis, \*\*  $p < 0,01$ .

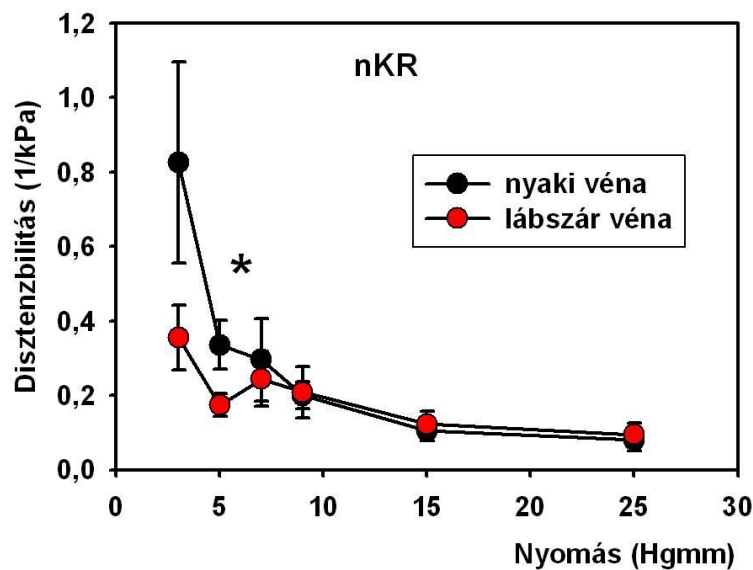
#### 4.1.2. Elaszticitás

A disztenzibilitást jelentősen különbözőnek találtuk a két csoportban, a különbség, azonban, nyomás és izomtónus függőnek mutatkozott. Ca-mentes oldatban, közepes és magasabb nyomások mellett a lábszári erek voltak a tágulékonyabbak (25 Hgmm-nél  $0,034 \pm 0,011$  1/kPa a felső és  $0,086 \pm 0,017$  1/kPa az alsó testfőlen,  $p < 0,004$ ), (16. ábra).



16. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Disztenzibilitás intraluminális nyomás összefüggés Ca-mentes oldatban vizsgálva. In vitro angiográfia. 5-25 Hgmm között két szempontos variancia analízissel és Tukey posthoc teszttel \*\*  $p < 0,004$ .

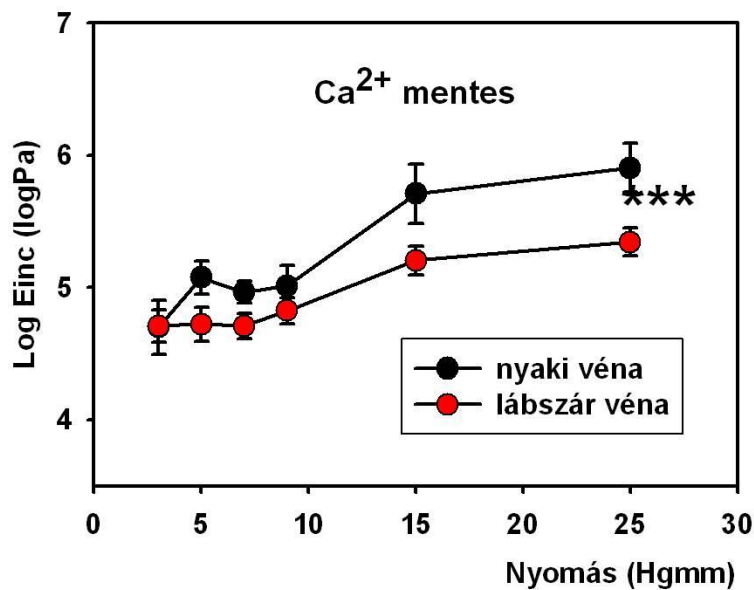
Spontán kontrahált mintáknál (nKR oldatban) ellentétes eredményt kaptunk, alacsony nyomásokon a nyaki vénák bizonyultak jelentősen tágulékonyabbnak (3 Hgmm-en  $0,83 \pm 0,27$  1/kPa a nyaki és  $0,36 \pm 0,09$  1/kPa a lábszári szegmentekben,  $p < 0,001$ ), (17. ábra).





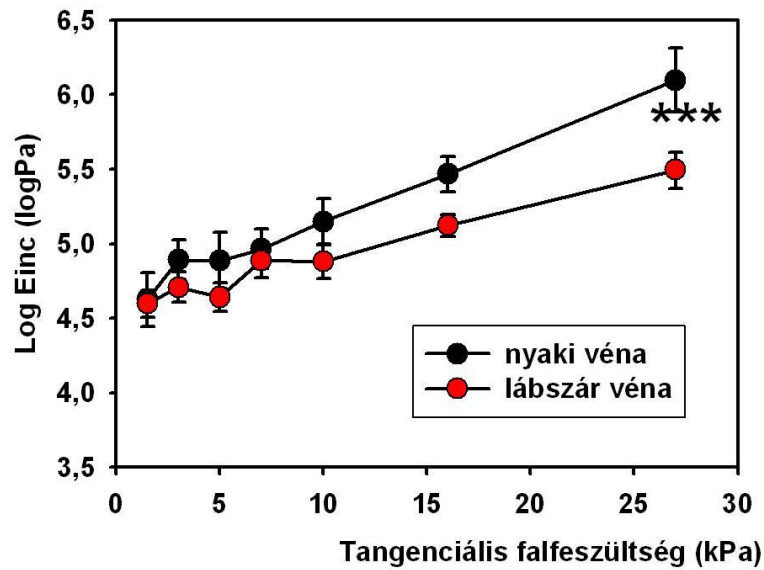
17. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Disztenziilitás intraluminális nyomás összefüggés nKR oldatban. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízissel  $p < 0,067$  és Tukey posthoc teszttel 3 Hgmm-en  $* p < 0,001$ .

Hasonló eltérések mutatkoztak, amikor az elasztikus modulust vizsgáltuk relaxált állapotban. A közepes és nagy nyomásokon a nyaki érminták elasztikus modulusa bizonyult nagyobbak (25 Hgmm-nél  $5,90 \pm 0,18$  logPa és  $5,34 \pm 0,11$  logPa,  $p < 0,05$  Tukey posthoc teszttel), (18. ábra).



18. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Elasztikus modulus (log érték) intraluminális nyomás összefüggés Ca-mentes oldatban. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízis, \*\*\*  $p < 0,001$ , Tukey teszt 15 és 25 Hgmm-en,  $p < 0,05$ .

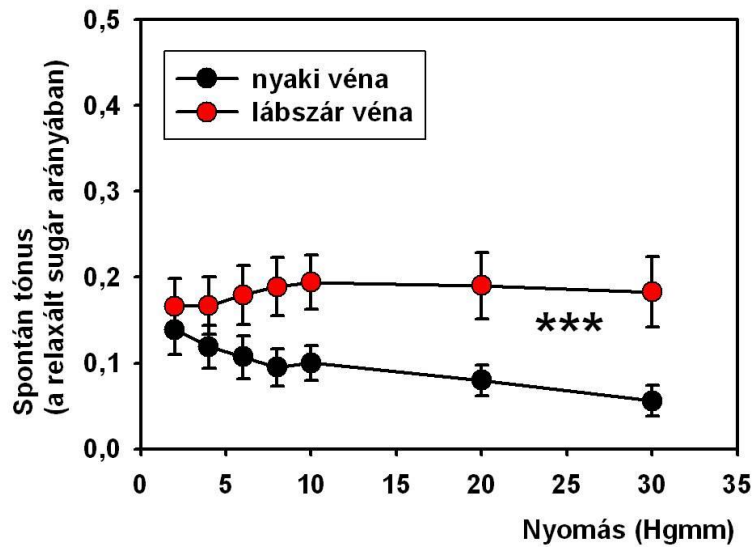
Az érfal szöveteinek elasztikus tulajdonságait az elasztikus modulus és a falfeszültség összefüggésében vizsgáltuk. Az alacsony feszültség értékektől eltekintve a nyaki vénák jelentősen rigidebbnek bizonyultak (27 kPa-nál  $6,1 \pm 0,22$  logPa a nyaki és  $5,49 \pm 0,12$  logPa a lábszári minták esetében,  $p < 0,001$ ), (19. ábra).



19. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Elasztikus modulus (log érték) tangenciális falfeszültség összefüggés Ca-mentes oldatban. In vitro angiográfia. Két szemponos variancia analízis, \*\*\*  $p < 0,001$ , Tukey teszt 16 és 27 kPa-on,  $p < 0,05$ .

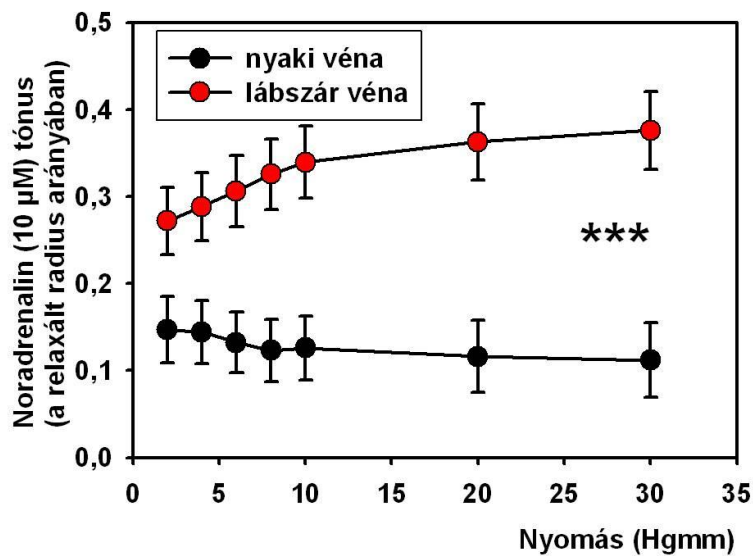
#### 4.1.3. Kontraktilitás

A spontán kontrakció, azaz az átmérő csökkenés nKR oldatban a Ca-mentes állapothoz képest, jelentős különbségeket mutatott a két csoportban. A spontán tónus szignifikánsan magasabb volt a lábszári mintákban (30 Hgmm-nél  $5,6 \pm 1,8\%$  a nyakon és  $18,3 \pm 4,1\%$  a lábszáron,  $p < 0,05$  Tukey posthoc tesztel), (20. ábra).



20. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Spontán tónus (a relaxált sugár arányában) intraluminális nyomás összefüggés nKR oldatban. In vitro angiográfia. Két szemponos variancia analízis, \*\*\*  $p < 0,001$ , Tukey teszt 8-30 Hgmm-en,  $p < 0,05$ .

A maximális, noradrenalin indukálta tónus is jelentősen magasabb volt az alsó testféli vénákban (30 Hgmm-es nyomásnál  $11,2 \pm 4,3\%$  a nyaki és  $37,6 \pm 4,5\%$  a lábszári mintákban,  $p < 0,001$ ), (21. ábra).

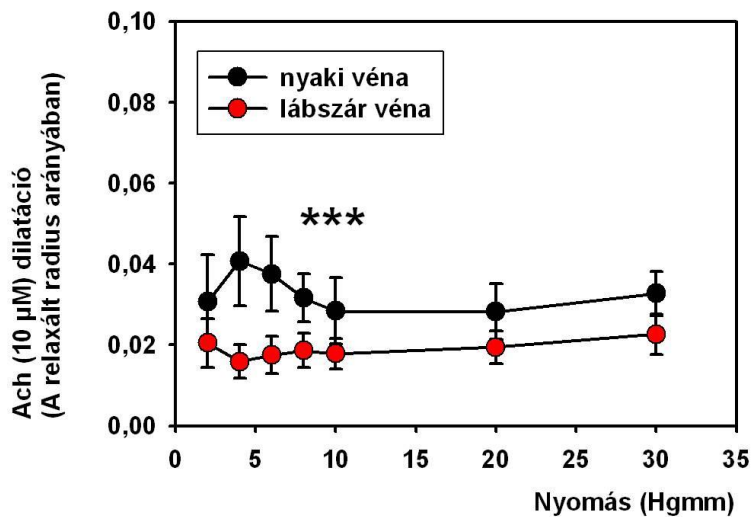


21. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. Maximális tónus  $10 \mu\text{M}$  NE adását követően (a relaxált sugár arányában) intraluminális nyomás összefüggés. In vitro

angiográfia. Két szempontos variancia analízis, \*\*\*  $p < 0,001$ , Tukey teszt 2-30 Hgmm-en,  $p < 0,01$ .

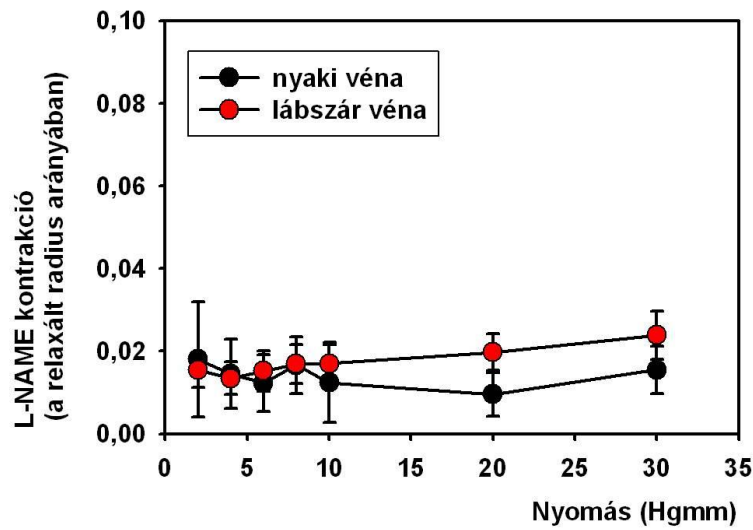
#### 4.1.4. Endoteliális dilatáció

Az acetilkolin hatására létrejött dilatáció, amelyet a relaxált állapothoz viszonyítottunk, jelentősen nagyobb fokú volt a nyaki érmintákban (4 Hgmm-nél  $4,1 \pm 1,1\%$  vs.  $1,6 \pm 0,4\%$ ,  $p < 0,001$ ), (22. ábra).



22. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. 10 µM Ach adás után mutatkozó dilatáció (a relaxált sugár arányában) intraluminális nyomás összefüggés. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízis, \*\*\*  $p < 0,001$ , Tukey teszt 4-6 Hgmm-en,  $p < 0,05$ .

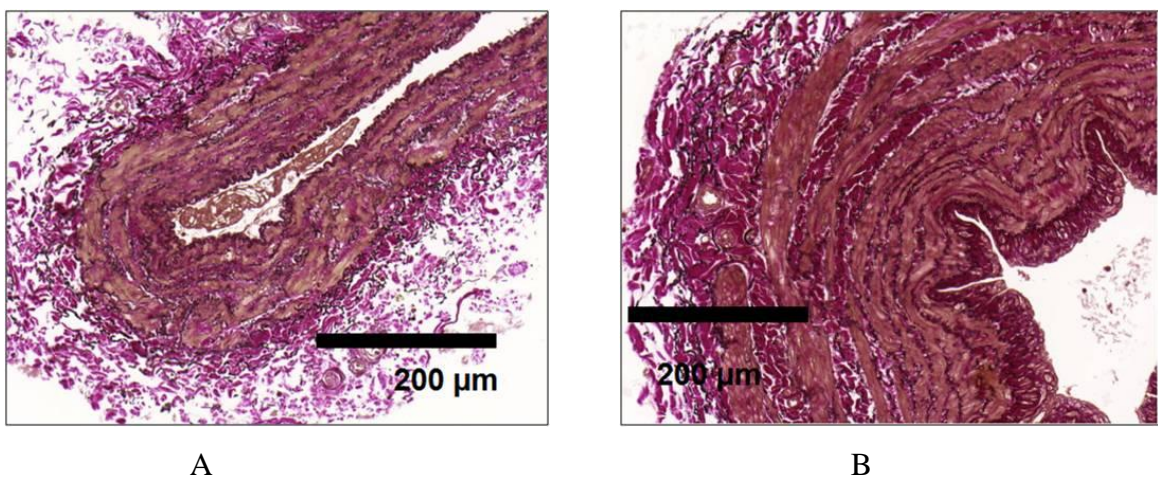
A mindezek után beadott 100 µM L-NAME hatására jelentkezett, a relaxált állapothoz viszonyított kontrakcióban nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a két csoport között (23. ábra).



23. ábra: Nyaki és lábszári humán felületes vénák. 100  $\mu$ M L-NAME adás után mutatkozó kontrakció (a relaxált sugár arányában) intraluminális nyomás összefüggés. In vitro angiográfia. Két szempontos variancia analízis, non-szign.

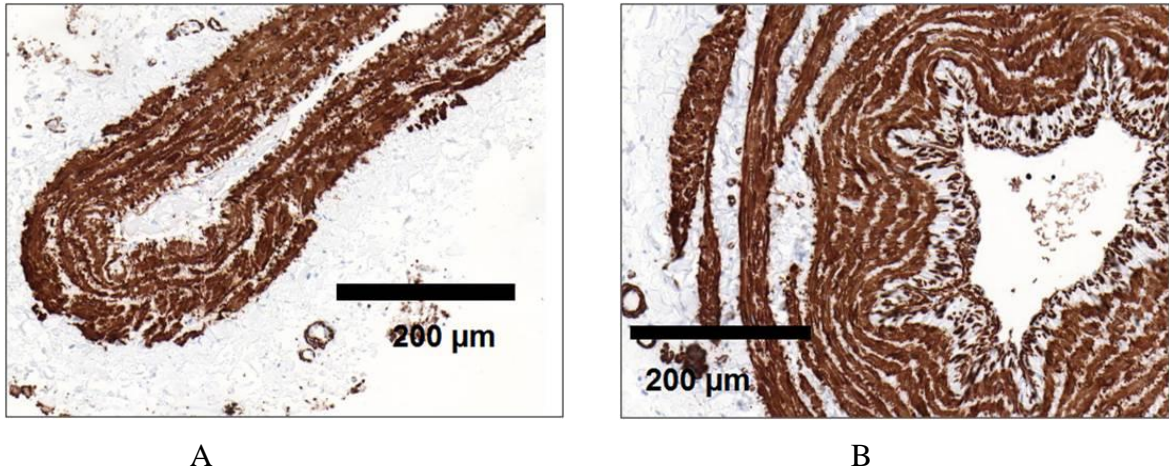
#### 4.2. A nyaki és lábszári vénák szövettani eltérései

Az elasztikus elemek mennyisége rezorcin-fukszin festéssel jelentősen nagyobbak bizonyult az alsó testféli vénákban, mint a felső testfélben (24. ábra).



24. ábra: Rezorcin-fukszin festés. A: nyaki véna, B: lábszári kis véna.

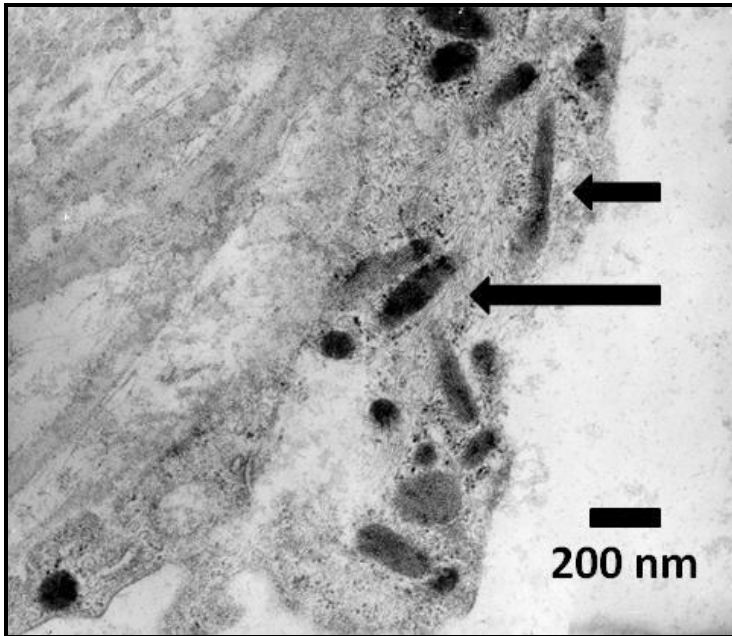
Simaizom aktin immun-hisztokémiai festésével számottevően több simaizom lemez mutatkozott a lábszári érmintákban (25. ábra).



25. ábra: SMA immunhisztokémia. A: nyaki, B: lábszári kis véna.

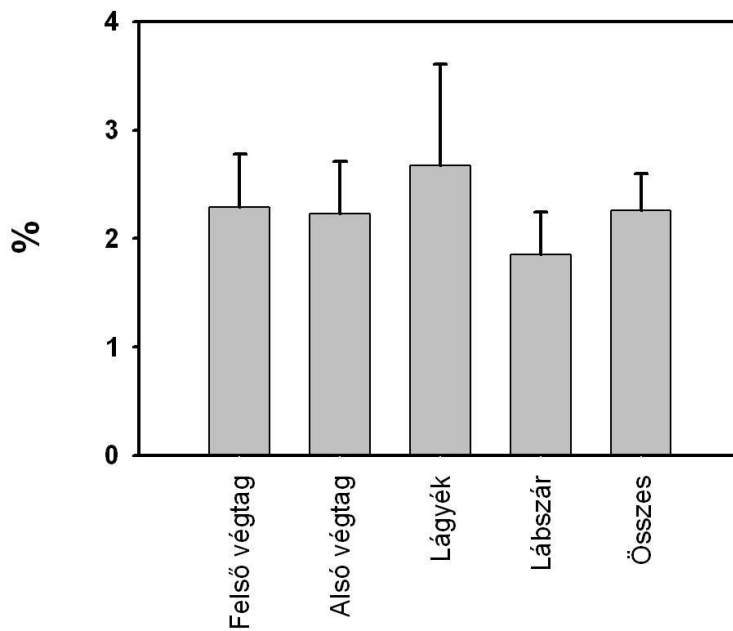
#### 4.3. *Elektronenz vezikulumok sűrűsége a felső és alsó végtagi endotélben*

Az elektron-mikroszkópos képeket áttekintve megállapítható, hogy az általunk vizsgált humán felső és alsó végtagi vénák endotélsejtjei is tartalmaznak elektronenz vezikulumokat, hasonlókat azokhoz, amelyeket munkacsoportunk állatkísérletekben korábban kimutatott és vizsgált. Ezeknek a sötét granulumoknak a méretét 30-600 nm-esnek találtuk. Egy részük mutatta a Weibel-Palade Testek (WPB) típusos szivar alakját is (26. ábra).



26. ábra: Elektron-mikroszkópos vizsgálat, 20000x nagyítás. Az elektrondenz vezikulumokat az endotélben nyilak jelzik

Az összes érszegmentumot vizsgálva a densz vezikulumok metszetének össz felszíne az endotélsejtek metszetéhez képest  $2,26 \pm 0,34\%$  volt. A felső végtagi mintákban ezt az arányt  $2,29 \pm 0,49\%$ -nak, az alsó végtagi vénákban  $2,23 \pm 0,48\%$ -nak találtuk, amely statisztikailag nem mutatott szignifikáns különbséget. Az alsó végtagi eredményeket lágyéki és lábszári eredetük szerint felosztottuk, a vezikulum sűrűség az előbbi csoportban  $2,67 \pm 0,94\%$ , az utóbbiban  $1,85 \pm 0,39\%$  volt, a különbségeket itt sem találtuk statisztikailag jelentősnek. A krónikus gravitációs terhelés szempontjából leginkább különböző két területet (felső végtag vs. lábszár) összevetve sem mutatkozott a vezikulumok sűrűségében szignifikáns különbség (27. ábra).

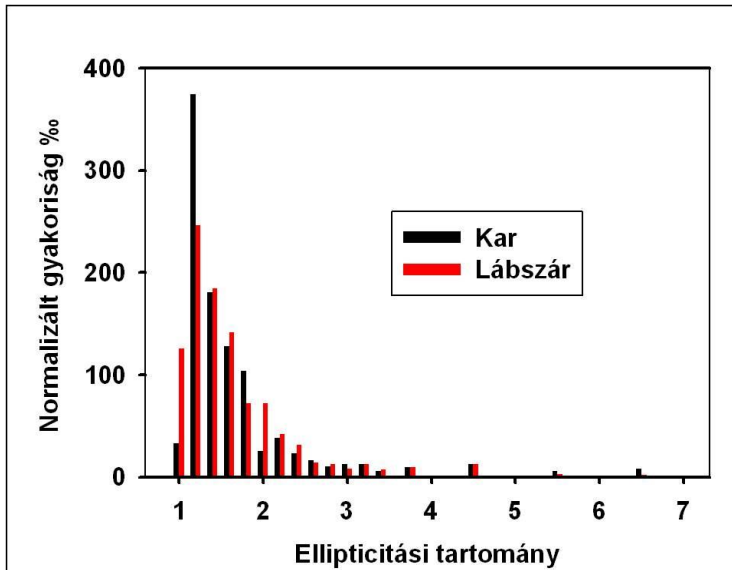


27. ábra: A vezikulumok sűrűségének megoszlása a különböző mintavételi területeken. N.s.

#### 4.4. Az elektrondenz vezikulumok geometriájának eltérései

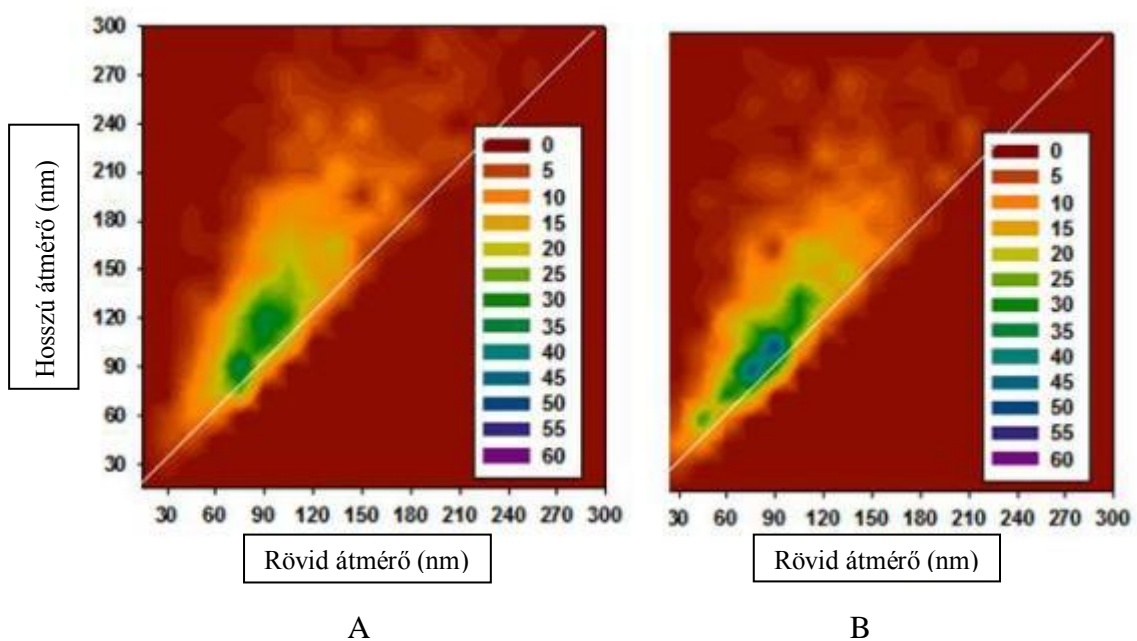
Karból és lábszárból származó érminták elektron-mikroszkópos képein 2540 granulum (1223 a karból és 1317 a lábszárból) rövid és hosszú tengelyét mértük meg. A tengelyek arányát, azaz a vezikulumok ellipticitását meghatároztuk és ez alapján a kar és lábszári minták gyakorisági megoszlását elvégeztük. Szignifikáns különbséget találtunk a két csoport között  $\chi^2$  teszttel,  $p < 0.01$  (28. ábra).



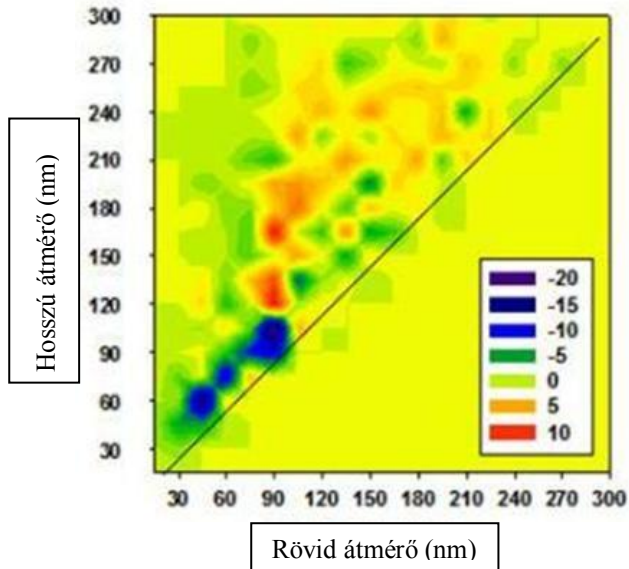


28. ábra: A karból és lábszárból származó granulumok ellipticitásának gyakorisági megoszlása.

A vezikulumok geometriájának statisztikai analízisét elvégeztük. A rövid és hosszú tengelyek alapján meghatároztuk a granulumok relatív gyakoriságát (29. ábra). A lábszári minták granulumainak relatív gyakoriságából kivonva a karból származók relatív gyakoriságát (30. ábra) világossá vált, hogy a lábszári vezikulumok nagyobbak és oválisabbak (vörös pontok a grafikonon), míg a kar granulumai kisebbek és inkább kerek átmetszetűek (kék területek).



29. ábra: A lábszár (A) és a kar (B) mintáiból származó vezikulumok rövid és hosszú tengely alapján meghatározott relatív gyakorisága.



30. ábra: A lábszárból és karból származó granulumok rövid és hosszú tengely alapján meghatározott relatív gyakoriságának különbsége. A vörös pontok reprezentálják a lábszári vezikulum nagyobb számát, a kék területek a kar granulumainak nagyobb gyakoriságát jelzik.

## 5. Megbeszélés

Az antigravitációs védekező reakciók a szárazföldi állatvilág valószínűleg legősibb adaptációs mechanizmusai közé tartoznak. A gravitációs terhelés emberen különösen nagy, álló testhelyzetben a lábszári vénákra tízszeres nyomásterhelés nehezedhet. A rövidtávú terheléssel szembeni védekező mechanizmusokról szélesebb ismeret halmozódott fel, a krónikus terhelés vénákra kifejtett hatásairól és adaptációjukról, azonban kevesebb ismeret áll rendelkezésünkre. Vizsgálatainkkal humán vénák krónikus gravitációs terhelésre adott biomechanikai és strukturális válaszait igyekeztünk feltérképezni (Monos 1992, Monos és mtsai 2003a, Monos és mtsai 2003b, Monos és mtsai 2007).

### *5.1. Krónikus ortosztázis hatása a vénák biomechanikájára*

Krónikus ortosztázis terhelés szempontjából jelentősen különböző területről, a nyakból és a lábszárból eltávolított kis, felületes vénák hemodinamikai tulajdonságait hasonlítottuk össze. A relaxált állapotot nézve a minták külső átmérője a két csoportban szinte megegyezett (12. ábra). Normál Krebs-Ringer oldatban, azonban a lábszári vénák szignifikánsan kisebbek voltak, amely igazolja számottevő intrinszik tónus jelenlétét a vénákban (13. ábra). A nyaki vénák fala jelentősen vékonyabb volt (14. ábra), amely egyezik azzal a korábbi megfigyeléssel, hogy az alsó testféli vénák fala általában vastagabb, mint a felső testféli (Eiken és Kölegård 2004). A sugár és falvastagság viszonyok miatt az izobárikus falfeszültség a nyaki vénákban jelentősen nagyobbak bizonyult (15. ábra). Mindezeknek a biomechanikai tulajdonságoknak az előnye, feltehetően az alsó végtagi vénák nagyobb ellenálló képessége a nagyobb intraluminális nyomással szemben.

Általánosan elfogadott, hogy a vénák egyik legfontosabb szerepe a kapacitás autoreguláció. Az intraluminális nyomás fiziológias tartományban való akut emelésére az átmérő, kísérletes körülmények között csak mérsékelten emelkedett (Monos és mtsai 1989b). Krónikus gravitációs terhelésre, azonban a passzív átmérő jelentősen növekedett állatkísérletes modellben (Monos és mtsai 1989a, Raffai és mtsai 2008). A kapacitás növekedése mellett a falvastagság érdemben nem változott ezekben az

erekben, ezért a Laplace-Frank egyenlet alapján az izobárikus falfeszültség 30%-os növekedését lehetett mérni a fej-fel tilt helyzetben krónikusan tartott patkányok hátsó lábainak vénáiban (Monos és mtsai 1989a). Érdekes módon, mikrogravitációs körülmények között (űrrepülés vagy tartós ágynyugalom) vagy mikrogravitációs állatmodelleken (fej-le tilt helyzet) végzett vizsgálatok eredményei sok esetben nem a fokozott ortosztatikusan terhelés biomechanikai eredményeinek ellenkezője. Mikrogravitációs modelleken is észlelték a vénás kapacitás növekedését, amelyet az ér körüli izmok atrófiájának tulajdonítottak (Convertino és mtsai 1989, Louisy és mtsai 1990).

A végtagi vénákkal ellentétben a mezenteriális vénák falvastagsága és falvastagság-átmérő hányadosa csökkent akut nyomásterhelésre (Enouri és mtsai 2011). Humán v. femoralis kapacitása növekedett, míg a v. jugularis internáé csökkent fekvő testhelyzetből való felálláskor. A v. femoralis jelentősen rigidebb álló, mint fekvő helyzetben. A v. jugularisnál ennek ellenkezője figyelhető meg (Bérczi és mtsai 2005). A lokalizáción kívül egyéb tényezők is befolyásolják a vénák passzív biomechanikai tulajdonságait. Humán vizsgálatok szerint a v. femoralis communis átmérője az életkorral csökken. A lábszári vénák kapacitanciája gravitációs terhelésre idős páciensekben változatlan marad, míg fiatalokban csökken (Fronek és mtsai 2001, Fu és mtsai 2002). Az emberi vénák hemodinamikai tulajdonságaiban genetikai faktoroknak is jelentős szerepet tulajdonítanak (Molnár és mtsai 2008b, Molnár és mtsai 2013). Egészséges egyénekhez képest a poszttrombotikus betegeknél a v. femoralis és jugularis kapacitása nagyobbak bizonyult (Molnár és mtsai 2006).

A vénák elasztikus tulajdonságait is sokféle tényező befolyásolhatja. Egy korábbi vizsgálatban kimutatható volt, hogy krónikus gravitációs stresszre a patkány végtagi véna disztenzibilitása csökkent (Monos és mtsai 1989a). A kísérletes mikrogravitációnak a végtagi vénák elasztikus tulajdonságaira kifejtett hatásáról különféle eredmények jelentek meg. Tartós ágynyugalom hatására a vénás kapacitancia a lábszárban csökkent, míg a karban nem változott (Bleeker és mtsai 2004). Más vizsgálatok szerint a lábszári vénák kapacitanciája és disztenzibilitása növekedett mikrogravitáció hatására, amelyet a környező szövetek csökkenésének régebbi teóriájával magyaráztak (Convertino és mtsai 1989, Dunbar és mtsai 2001). Egy további

kísérlet a v. tibialis és brachialis disztenzibilitásának emelkedését találta tartós ágynyugalmat követően (Kölegård és mtsai 2009).

A lokalizáció szerint vizsgálva is számottevő különbség észlelhető az elasztikus tulajdonságokban. Az emberi v. cephalica disztenzibilitása nagyobb, mint a lábszári vénáké, a v. mesenterica jelentősen tágulékonyabb, mint a v. lienalis (Brookes és Kaufman 2003, Eiken és Kölegård 2004). Az emberi v. axillaris mérsékelten, a v. jugularis kifejezetten tágulékony, míg a v. femoralis disztenzibilitása jelentősen nagyobb fekvő, mint álló helyzetben (Bérczi és mtsai 2005). Egy nemrégiben végzett kísérletben felkari vénákat vizsgáltak nyomásterhelést követően embereknél. A v. brachialis és cephalica disztenzibilitása csökkent, amely vagy a vénafal átalakulásával, a kötőszöveti elemek átépülésével vagy a miogén tónus megemelkedésével magyarázható (Kölegård és Eiken 2011). Idős és ortosztatikus intoleranciában szenvedő betegeknél az alsó végtagi vénás kapacitancia alacsonynak bizonyult (Freeman és mtsai 2002, Olsen és Länne 1998). A v. femoralist és jugularist vizsgálva mindkét ér tágulékonyabbnak bizonyult egészséges egyéneknél, mint a poszttrombotikus betegek esetében. A jelenségre két magyarázat adható: örökletes vénafal eltérések vezetnek trombózisra vagy a trombózis során felszabaduló különböző mediátorok, citokinek okozzák az érfal átalakulását (Molnár 2008, Molnár és mtsai 2006). Az elasztikus tulajdonságok változhatnak a szimpatikus aktivitással, az idegingerre való válaszkészség azonban terület függő. Megfigyelték, hogy az alsó végtagi vénák kapacitanciája a szimpatikus aktivitás növekedésére csökkent, továbbá a bőr vénák intenzívebben reagáltak, mint a mély vénák (Kölegård és Eiken 2011). Munkacsoportunk egy korábbi vizsgálata szerint a kontrahált és relaxált v. saphena elasztikus modulusai között embernél sokkal jelentősebb a különbség, mint kutyáknál (Bérczi és mtsai 1992).

Vizsgálati eredményeink érdekes összefüggést mutattak a disztenzibilitás és az intraluminális nyomás között (16., 17. ábra). Alacsony nyomásokon a nyaki vénák voltak tágulékonyabbak, míg közepes és nagy nyomáson a lábszári minták disztenzibilitása bizonyult nagyobbak. Az elasztikus modulus tekintve minden nyomásértéken a lábszári erek voltak rugalmasabbak, tehát a nyaki vénák mutatkoztak merevebbnek (18., 19. ábra). A lábszári vénák nagyobb nyomásokon való nagyobb rugalmassága is a fiziológias körülményekhez, a magasabb nyomásértékekhez való alkalmazkodást mutatja.

Állatkísérletes eredmények szerint a kapacitancia 30%-át az aktív miogén tónus kontrollálja. Akut nyomásterhelés a v. saphena simaizom sejtjeiben depolarizációt okoz, amely jelentős aktív érfali összehúzódásra vezet (Monos és mtsai 1989b). Jelentős különbség mutatkozott az ember és a kutya v. saphenájának miogén tónusában. Embernél a lumen kapacitás 120%-át, kutyában mindössze 10%-át befolyásolja a miogén tónus (Bérczi és mtsai 1992). A NE és az endotél eltávolításának a miogén tónusra gyakorolt hatásáról is történtek vizsgálatok. A NE jelentősen fokozta, míg az endotél eltávolítása csak mérsékelten befolyásolta a miogén választ. Több egyéb vizsgálattal is egyetértésben megállapítható volt, hogy a vénás miogén tónus független az endotéltől (Bérczi és mtsai 1992, Dörnyei és mtsai 1996, Enouri és mtsai 2011). A vaszkuláris tónus fő ingere az intraluminális nyomás vagy a falfeszültség. Az áramlás és a longitudinális feszülés is befolyásolhatja a tónust valószínűleg a megváltozott nyírófeszültségen keresztül, amelynek következtében endotél-eredetű nitrogén-oxid (NO) szabadul fel és vazodilatációt okoz (Koller és mtsai 1998, Monos és mtsai 1989b, Monos és mtsai 1993). Patkány v. saphenán végzett kísérletek során két hét fej-fel tilt helyzet okozta krónikus gravitációs terhelés a simaizom sejtek hiperpolarizációját és a miogén tónus fokozódását eredményezte. Hosszabb, négy hétig tartó terhelés után, azonban nem mutatkozott a spontán és NE-indukálta miogén válaszban különbség a terhelés nélküli eredményekhez képest. Valószínűleg ennek a jelenségnek a hátterében a fal szerkezeti átalakulása és simaizom proliferáció áll (Monos és mtsai 1989a, Raffai és mtsai 2008). A spontán vénás tónusban is láthatunk különbségeket az anatómiai lokalizációnak megfelelően. Állatkísérletekben nyert bizonyítást, hogy a vázizom vénáinak kontraktilitása jelentősen kisebb, mint a mezenteriális vénáké, míg a lépvéna miogén tónusa elhanyagolható. Emberben a v. saphena kifejezett, míg v. cephalica jelentéktelen miogén válaszkészséggel rendelkezik (Brookes és Kaufman 2003, Monos 1996, Szentiványi Jr és mtsai 1997). A mikrogravitációs vizsgálatokban észlelhető kapacitancia emelkedés hátterében vagy a környező izom- és egyéb szövet sorvadása vagy a simaizom tónus csökkenése állhat (Louisy és mtsai 1990).

A Ca-szenzitivitásnak az értónus szabályozásában betöltött szerepét elsősorban az artériákkal kapcsolatban írták le. A teória szerint a falfeszülést mechanoszzenzitív enzimek, feszülés-aktiválta ioncsatornák és az extracelluláris mátrix, illetve a citoszkeleton kapcsolatai érzékelik, amelyek a simaizom sejtek depolarizációját

okozzák. A kalcium sejtbe való beáramlása, miozin könnyűlánc foszforiláció, majd aktin-miozin interakció következik, amely a kontrakcióra vezet. A simaizom sejt Ca-érzékenységét a miozin könnyű lánc kináz és foszfatáz enzimeinek dinamikus egyensúlya határozza meg (Schubert és mtsai 2008).

A vénák miogén tónusának klinikai jelentősége kettős. Emelkedett szintje hozzájárulhat a hipertóniához, míg az alacsony tónus ortosztatikus intoleranciához vezethet (Bérczi és mtsai 1992, Monos és mtsai 2003b).

Vizsgálatainkban a spontán tónus minden nyomáson kifejezettebb volt az alsó testfél vénáiban (20. ábra). Hasonlóképpen a maximális kontrakció is a lábszári mintákban volt szignifikánsan magasabb, sőt a nyomás növelésével folyamatosan nőtt, míg a nyaki vénákban fokozatosan csökkent (21. ábra). Úgy találjuk, hogy az aktív kontraktilitási tulajdonságokban észlelt eltérések jelentősége is abban áll, hogy az alsó végtagi vénák megfelelően tudnak alkalmazkodni a fiziológiásan nagy ortosztatikus terheléshez.

Eredményeink szerint az Ach által kiváltott vazodilatáció szignifikánsan nagyobb volt a nyaki vénákban (22. ábra). Az L-NAME hatásra létrejött kontrakció, azonban nem volt jelentősebb a nyaki mintákban (23. ábra), amely arra enged következtetni, hogy az Ach hatása részben NO-tól független. Egyéb vasodilatátor ágensek, például prosztanoidok állhatnak a folyamat hátterében. Az endotél eredetű vazodilatáció mechanizmusait elsősorban artériákon vizsgálták, amelyek eredményei nem vonatkoztathatók egyértelműen a vénákra. Artériáknál az Ach, az adozinhoz, bradikininhez, hisztaminhoz és bizonyos nyírófeszültséghez hasonlóan az endotél sejtben Ca-szint növekedést okoz, amely két utat aktivál. Az egyik a NO-szintáz aktivitásának fokozódásán keresztül a NO képződését okozza, amely a simaizom sejtben ciklikus guanozin-monofoszfáton (cGMP-n) keresztül vezet Ca-szint csökkenéshez és relaxációhoz, így vazodilatációhoz. A másik út az endotél sejtben a Ca-szint növekedés hatására létrejövő arachidonsav felszabadulás, ciklooxygenáz enzim aktiválódás, amely prosztaciklin képződéséhez vezet. A prosztaciklin a simaizom sejtben ciklikus adozin-monofoszfáton (cAMP-n) keresztül Ca-szint csökkentést és a másik úthoz hasonlóan vazodilatációt okoz. A mechanizmus összetettsége és a mediátorok egymásra hatása miatt több tényező blokkolása sem vezet a vazodilatációs válasz teljes elmaradásához (Duffy és mtsai 1999, Hellsten és mtsai 2012, Ray és

Marshall 2009, Schrage és mtsai 2004). Az endoteliális vénás dilatáció jelentősége a testmozgás vagy ortosztázis által kiváltott szimpatikus vazokonstrikció ellenregulálása lehet (Guazzi és mtsai 2005, Hainsworth és Drinkhill 2006, Rothe és mtsai 2006).

Az emberi vénákon végzett szerteágazó hemodinamikai méréseink nagyszámú, de egy irányba mutató eredményeket adtak, amely szerint a vénák az őket érő fiziológiás terheléshez biomechanikai tulajdonságaikkal remekül alkalmazkodnak.

### *5.2. Krónikus gravitációs terhelés hatása a vénák szövettani felépítésére*

A vénák falának vastagsága és felépítése jelentős változatosságot mutat. Biomechanikai vizsgálataink megerősítették, hogy a krónikus ortosztatikus terhelésnek jobban kitett alsó végtagi vénák fala vastagabb. Az elasztin-kollagén arány, illetve a különböző kollagén rosttípusok aránya kimutatottan megváltoztatja az érszakasz rugalmassági, tágulékonysági tulajdonságait. A passzív tényezők mellett az aktív hemodinamikai sajátosságokban is jelentős különbségeket látunk. A lábszári felületen lévő vénák médiájában a simaizom mennyisége kifejezett, míg proximálisan haladva a vénákból fokozatosan kivész a simaizom. A megfigyelés magyarázatul szolgálhat, hogy a jobb pitvarhoz közeledve az álló testhelyzetben mérhető hidrosztatikai nyomás terhelés csökken, így a proximálisabb vénák működésük során aktív kontrakcióit kevésbé végeznek (Bergan 2007).

Hisztokémiai vizsgálataink során az alsó végtagi vénákban jelentősen több elasztikus lemezt tudunk kimutatni, mint a nyaki mintákban (24. ábra). A lábszári vénák 5.1. fejezetben bemutatott, magasabb nyomásokon is nagyobb rugalmassága, többek között erre a szövettani sajátosságra vezethető vissza. Az elasztin biomechanikai tulajdonságai révén nagy nyomásokon javítja a tágulékonyságot, míg alacsony falfeszültség mellett csökkenti (Dobrin 1978).

Az immunhisztokémiai és biomechanikai vizsgálatainkat összevetve feltételezzük, hogy az alsó végtagi vénákban tapasztalt magasabb spontán és maximális tónus a nyaki mintákban találhatónál nagyobb mennyiségű kontraktilis elem jelenlétének köszönhető (25. ábra).



### 5.3. Tartós ortosztázis hatása az endotél vezikulumainak sűrűségére

Munkacsoportunk korábban állatkísérletek során elektron-mikroszkóppal végtagi vénák endotéljében sötét vezikulumokat vizsgált. Megjelenésük alapján ezek az elektronenz granulumok szekretoros vezikulumok képét mutatták. Elsősorban a lumenoldalon helyezkedtek el, könnyen elkülöníthetőek voltak a pinocitotikus mikrovezikulumoktól, amelyek kisebbek és világosak. A sötét vezikulumok sűrűsége a hátsó lábak felületén szignifikánsan csökkent krónikus ortosztázis terhelés hatására (Raffai és mtsai 2005, Raffai és mtsai 2004). Ezen megfigyelések alapján felmerült a lehetőség, hogy ezeknek a vezikulumoknak a keletkezése, érése és kiürülése humán vénákban is összefüggést mutat a krónikus gravitációs terheléssel.

Az endotélsejt folyamatos rétege szemipermeabilis barrierként működik. A kis molekulákkal, ionokkal, folyadékokkal szemben a makromolekulák transzendoteliális transzportja nagyon összetett mechanizmusú, erősen szabályozott folyamat. A sejtek közötti járatokon, interendoteliális junctionokon keresztül zajlik a paracelluláris transzport, amelyen keresztül fiziológiás körülmények között a makromolekulák nem jutnak át. A membrán vezikulumokkal történő intracelluláris út különböző mechanizmusokból állhat: különálló vezikulumokkal megvalósuló transzcitózis, különböző vezikulumok összeolvadásával és szétválásával történő transzport és vezikulumok sorából képződő ideiglenes csatornák által. Minthogy a vezikulumok nagyon dinamikus struktúrák, valószínűleg a felsorolt mechanizmusok mindegyike megvalósul, egy folyamatosan változó rendszert alkotva. Az endotél sejten keresztüli vezikuláris transzport caveolákon, más névvel plazmalemmális vezikulumokon keresztül valósul meg. A makromolekulák vezikuláris szállítása specifikus, receptor függő. A vezikulum funkcióját determinálja a receptor típusa (Dvorak 2010, Kiss 2012, Kiss és Botos 2009, Komarova és Malik 2009, Komarova és mtsai 2007, Mehta és Malik 2006, Michel 1996, Michel és Curry 1999, Michel és Neal 1999, Minshall és mtsai 2002, Ogawa és mtsai 2001, Predescu és mtsai 2004, Predescu és mtsai 2007, Predescu és Palade 1993, Rippe és mtsai 2002, Stewart 2000).

Az endotélen keresztüli szállítás mellett a vezikulumok jelentős szerepet játszanak az endotél sejtben képződött ágensek tárolásában és szállításában. Számos ilyen faktor közül a von Willebrand faktor (VWF) a legismertebb, amely speciális

organellumban, a Weibel-Palade testben (WPB) tárolódik. Weibel és Palade 1964-ben írta le ezeket az elektron-mikroszkóppal sötét vezikulumokat, amelyek hosszúságuk, akár 3  $\mu\text{m}$  hosszúak is lehetnek, átmérőjük átlagosan 0,1  $\mu\text{m}$  (Weibel 2012). A legújabb eredmények szerint a WPB képződésében a VWF-nak elengedhetetlen szerepe van. Az érési folyamat során a VWF multimerizálódik, körülbelül százszor kompaktabb lesz, ezáltal válik a WPB oválissá, szerkezete tubulárisná, miközben elektron denzitása is jelentősen megnő (De Ceunynck és mtsai 2013, Metcalf és mtsai 2008, Rondaij és mtsai 2006, Valentijn és mtsai 2008, Valentijn és mtsai 2010, Valentijn és mtsai 2011). A VWF trombocita glikoprotein komplexen keresztül a vérlemezke adhéziót, glikoprotein IIb/IIIa útján a trombocita aggregációt facilitálja (Lowenstein és mtsai 2005). A WPB-k exocitózist hipoxia, iszkémia és sugársérülés fokozza. A fibrin, trombin, VEGF, szerotonin, hisztamin és az adrenalin ugyancsak fokozza a WPB felszabadulást, míg NO és hidrogén-peroxid gátolja (Brandherm és mtsai 2013, Lowenstein és mtsai 2005, Rondaij és mtsai 2006, Vischer és mtsai 2000). A WPB ürülését elősegítő és gátló tényezőkön kívül a VWF szabályozásában a VIII. alvadási faktornak is jelentős szerepe van. A VIII. faktor a WPB-n belül a VWF-hoz kapcsolódik, amely az exocitózis után is megmaradhat, amellyel gátolni tudja a VWF vérlemezkékre gyakorolt hatását (Bouwens és mtsai 2011). A WPB-ban tárolt további ágenseknek hemosztázist, gyulladást, hemodinamikát és angiogenezist szabályozó szerepük van. A VIII. és XIII. alvadási faktor szerepe értelemszerűen a hemosztázisban van. A P-szelektin és az interleukin-1 a gyulladásban jelentős. Az ET és endotelin konvertáló enzim (ECE) vazokonstriktiót, a CGRP vazodilatációt okoz. Az angiopoetin-2 gyulladást és angiogenezist befolyásol, míg a ribonukleáz az extracelluláris RNS szabályozásban vesz részt (Fischer és mtsai 2011, Lowenstein és mtsai 2005, Rondaij és mtsai 2006, Zupančič és mtsai 2002). A WPB-k tartalma, az ágensek megoszlása nem állandó, részben lokalizációtól, részben az élettani környezettől függ (Gebrane-Younes és mtsai 1991, Metcalf és mtsai 2008).

Az endotélsejt néhány egyéb terméke, szöveti plazminogén aktivátor (tPA), protein S, tissue factor pathway inhibitor (TFPI) is denz vezikulumokban, de nem WPB-ban tárolódik. Ezek az organellumok kisebbek, maximális átmérőjük 0,25  $\mu\text{m}$  (Emeis és mtsai 1997, Zupančič és mtsai 2002).

Vizsgálataink során az endoteliális elektrondenz vezikulumok egy része mutatta a típusos WPB morfológiát. A végtagi kis felületű vénákban az elektrondenz

vezikulumoknak az endotélsejt területéhez viszonyított sűrűségét 2,26%-nak találtuk. A felső és az alsó végtagi minták, illetve a krónikus gravitációs terhelésnek jelentősen különböző mértékben kitett kar és lábszári vénák eredményeit összehasonlítva sem kaptunk statisztikailag szignifikáns különbséget (27. ábra). A jelenségre több magyarázatot is lehet adni: a vizsgált vénák már adaptálódtak a hemodinamikai terheléshez; az ember természetes napi tevékenysége során a hidrosztatikai nyomás jelentősen változik. Az összes mintát nézve, azonban a vezikulum sűrűségben megfigyelhető egy meglepően stabil 1,8-2,7%-os érték, amelynek hátterében feltételezhető egy jelenleg ismeretlen szabályozó mechanizmus.

Állatkísérletekben immunhisztokémiai módszerrel korábban kimutattuk, hogy az endotél vezikulumok ET-t és PDGF-t tartalmaznak, ezért ezekkel a vazoaktív ágensekkel behatóbban foglalkoztunk. Humán kísérleteink során is végeztünk ET és PDGF ellenes antitesttel immunhisztokémiai vizsgálatokat, azonban a kisebb felbontás miatt a vezikulumok tartalmáról nem adott megfelelő képet.

Az ET szekvenciáját 1988-ban Yonagisawa publikálta először. Az ET család négy izopeptidet tartalmaz, az ET-1, ET-2 és ET-3 21 aminosavat, az ET-4 31 aminosavat tartalmaz. Pre-pro-ET az endotél sejtben átalakul és pro-ET-1 (nagy ET-1) lesz belőle. Endotelin konvertáló enzim 1 (ECE 1) egy membrán enzim alakítja át a pro ET-1-t és keletkezik az aktív ET-1. Mind az ET, mind az ECE az endotél sejtben WPB-ben tárolódik. Az ET-1 főleg endotél sejtben szintetizálódik, de kisebb mértékben epiteliális sejt, mezangiális és gliasejt, májsejt és fibroblaszt is termeli. Az ET-1 a jelenleg ismert legerősebb vazokonstriktor ágens. Inotróp és mitogén hatása is van, stimulálja a simaizom sejt proliferációját, vaszkuláris remodelingre és angiogenezisre is hatással van, illetve befolyásolja a szimpatikus aktivitást és a renin-angiotenzin rendszert. Szekrécióját a katekolaminok, trombin, angiotenzin, vazopresszin, inzulin és kalcium, továbbá különböző állapotok, mint az isémia és abnormális nyírásfeszültség stimulálják. A NO, az ANP, ET-3 és prosztaciklin gátolja az ET-1 szekrécióját. Az ET-1 fokozza az NO, vazopresszin, ANP, aldosteron és prosztaglandinok képződését. Az ET-2 főleg a vesében és a belekben szintetizálódik, hatáserevése hasonló az ET-1-hez. A legkevésbé erős hatású izopeptid az ET-3, amely a központi idegrendszerben, tüdőben, vesében, pancreasban és a lépben termelődik. Az ET-4 a tüdőben, a vese epitél sejtjeiben és a bél mukózában található (Balakrishnan és Pandhi 1997, Haynes és Webb

1998, Hynynen és Khalil 2006, Kawanabe és Nauli 2011, Rodríguez-Pascual és mtsai 2011, Russell és mtsai 1998, Vanhoutte 2000).

Három altípusa ismert az ET receptornak,  $ET_A$ ,  $ET_B$  és  $ET_C$ . Az  $ET_B$  további két típusra bontható,  $ET_{B1}$  és  $ET_{B2}$ -re.  $ET_A$  alapvetően ér simaizom sejten található, hatása vazokonstriktó és sejt proliferáció.  $ET_B$  agyi és endotél sejteken, vese epitelioid sejteken és kisebb mértékben vaszkuláris simaizom sejteken helyezkedik el. Az  $ET_B$  aktiválódva a simaizom sejten vasokonstriktót okoz, de az endotélsejten vasodilatációra vezet valószínűleg az NO, prosztaciklin és endotélium eredetű hiperpolarizáló faktor (EDHF) felszabadulásának serkentésén keresztül. Az ET-ek klinikai jelentősége abban áll, hogy hozzájárulnak a hipertónia, atheroszklerózis, diabétesz, szívelégtelenség és krónikus veseelégtelenség kialakulásához (Granger 2003, Hynynen és Khalil 2006, Nádasy és mtsai 1996).

A PDGF szekvenciáját Waterfield és Doolittle fejtette meg 1983-ban. Növekedési faktorok családjába tartozó glikoprotein, amelyet trombociták, monocita/makrofágok, endotélsejtek és ér simaizom sejtek termelnek. Szintézisét az angiotenzin II, szerotonin, trombin, alacsony denzitású lipoprotein (LDL), vazopresszin és kóros nyírásfeszültség fokozza. Öt izoformája ismert: PDGF AA, AB, BB, CC és DD, amelyek közül az AB a legjelentősebb. Legfontosabb hatása a simaizom sejt proliferáció, migráció és kontrakció. A PDGF AA kisebb mitogén aktivitással rendelkezik. A PDGF BB migrációt folyamatosan serkent, míg az AA izoforma gátolja. Az összes izoforma okoz kontrakciót is (Dardik és mtsai 2005, Floege és mtsai 2008, Hughes és mtsai 1996).

Két receptor alcsoport ismert, PDGFR- $\alpha$  és  $\beta$ . PDGF A és C lánc csak az  $\alpha$  receptorhoz, a D lánc a  $\beta$ -hoz, míg a B lánc mindkét receptorhoz tud kötődni. A PDGF aktuális hatása a PDGF izoformák koncentrációjától és a receptor altípusok megoszlásától függ. A PDGF kórélettani jelentősége az atheroszklerózis és a resztenózisok kialakulásában van (Dardik és mtsai 2005, Floege és mtsai 2008, Hughes és mtsai 1996, Nelson és mtsai 1997). A vénás endotél sokoldalú szerepére utalnak ezek a szerteágazó hatások.

#### 5.4. Tartós gravitációs terhelés hatása az endotél vezikulumok geometriájára

Statisztikai vizsgálatokkal a korból és lábszárból származó kis, felületes vénák endoteliális szekretoros vezikulumainak geometriájában szignifikáns különbséget találtunk. Az alsó végtagi minták granulomai nagyobbak és elongáltabbnak bizonyultak. Elképzelhető, hogy ez a különbség a vezikulumok érési folyamatának különböző fázisainak vagy a szekretoros tartalom eltérésének tulajdonítható. Mivel a granulomok a hemosztázisban jelentős szereppel bíró mediátorokat (VWF, VIII. és XIII. alvadási faktor, tPA, protein S), illetve a biomechanikai szabályozásban fontos ágenseket (ET-1, ECE, CGRP) tartalmaznak, feltételezzük, hogy az észlelt eltérések hozzájárulnak a felső- és az alsó végtagi vénák trombotikus és hemodinamikai tulajdonságainak különbségeihez (Bouwens és mtsai 2011, Emeis és mtsai 1997, Lowenstein és mtsai 2005, Rondaj és mtsai 2006, Russell és mtsai 1998, Vischer és mtsai 2000, Zupančič és mtsai 2002).

A mechanikai terhelés vénákon jelentkező változatos hatása nyomán széles körben vizsgálták, hogy az érfal hogyan érzékeli a rá ható erőket és miképpen jut a hemodinamikai információ az endotél sejtbe és az érfal többi részébe. Az ér belfelszínén történő érzékelés (mechanosensing) folyamatát elsősorban artériákon vizsgálták. A hemodinamikai jel endotél sejtbe való átvitele kémiai úton (mechanotranszdukció) vagy mechanikus úton (mechanotranszmisszió) történhet, amely igen összetett, részleteiben még nem teljesen ismert mechanizmus (Davies 1995, Fisher és mtsai 2001). Az érfal számára a mechanikus információ az áramlásból származó nyírás feszültség vagy a nyomás okozta tangenciális feszültség lehet, amelyeknek nem csak a mértékétől, hanem mintázataitól is függ a válaszreakció (Atta 2012). Az érzékelés és a mechanotranszdukció élesen nem választható el egymástól, de az érzékelést caveolák (endotél vezikulumok), vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor 2 (VEGFR2), trombocita endotél sejt adhéziós molekula (PECAM) végzik elsősorban. A mechanotranszdukció membrán proteinek, áramlást érzékelő ion csatornák, integrinek, G proteinhez kapcsolt receptorok, membrán lipidek, receptor tirozin kinázok által történik. A citoskeleton és a sejt luminális és abluminális membránja által alkotott egységében jön létre a mechanotranszmisszió. Mindezek a tényezők szignál kaszkádot

aktiválnak, amelynek két fő útja a foszforiláció és az oxigén szabadgyökök képződése. Következésképpen különböző mediátorok szabadulnak fel és gének expressziója indul meg, amelyek a vaszkuláris szabályozásban jelentős szereppel bíró ágenseket kódolnak: VEGF, ET-1, IL-6, VCAM, MMP-2 és 9. Mindezek endotél sejt proliferációra, migrációra és apoptózisra vezethetnek. Hosszabb távon a simaizom sejtek is részt vesznek a kommunikációban, amelynek szerkezeti átalakulás vagy miogén tónus változás lehet a következménye (Anwar és mtsai 2012, Atta 2012, Chatterjee és Fisher 2014, Chien 2007, Fisher és mtsai 2001, Hsieh és mtsai 2014, Kefaloyianni és Coetzee 2011). Fiziológias hemodinamikai inger esetén a kaskád trombocita aggregáció, leukocita adhézio, gyulladás és apoptózis ellenes útjai aktiválódnak, míg kóros áramlás vagy nyomás viszonyok az endotél és hosszabb távon az egész érfal károsodására vezetnek (Ando és Yamamoto 2011, Hsieh és mtsai 2014, Monos 2011).

## 6. Következtetések

Kísérletes kutatómunkánk során emberi vénák strukturális és funkcionális tulajdonságait tanulmányoztuk abból a célból, hogy megismerjük a különböző lokalizációjú, különböző ortosztatikus terhelésű vénák jellegzetességeit. Vizsgálataink eredményeiből az alábbi következtetésekre jutottunk:

1. A hemodinamikai szempontból jelentősen különböző stressznek kitett vénák biomechanikai tulajdonságaiban számottevő különbségeket találtunk. A lábszári vénákban a fal szignifikánsan vastagabbnak bizonyult, mint a nyaki mintákban, így az azonos átmérőkre tekintettel az izobárikus falfeszültség a lábszári vénákban alacsonyabb. A disztenzibilitást nagyobb nyomásokon a lábszári vénákban találtuk magasabbnak, tehát a nyaki vénák a merevebbek. Az elastikus modulus is a nyaki érszegmentekben magasabb. A spontán és maximális tónus a lábszári vénákban bizonyult minden vizsgált nyomáson szignifikánsan magasabbnak. Az endoteliális dilatáció jelentősen nagyobb a nyaki vénákban. Az L-NAME hatásra létrejött kontrakcióban nem találtunk különbséget a két csoport között, amelyből arra következtethetünk, hogy az Ach hatása részben NO-tól független, egyéb vazodilatátor ágensek (például prosztanoidok) állhatnak a folyamat hátterében.
2. Biomechanikai méréseink eredményei mind a gravitációs terheléshez való krónikus (evolúciós) alkalmazkodást igazolják. A lábszári vénák vastagabb fala alacsonyabb izobárikus falfeszültséggel jár, amely az érfal nagyobb transzmurális nyomásokkal szembeni fokozott ellenálló képességét mutatja. A lábszári vénákat nagyobb és gyakran változó gravitációs stressz terheli. Nagyobb disztenzibilitásuk és rugalmasságuk, illetve miogén tónusuk és maximális kontraktilitásuk mértéke a sokszor nagy és változó ortosztatikus terheléshez való adaptáció részjelenségei.
3. Szöveti vizsgálataink igazolták, hogy a lábszári vénák falában az elastikus elem és a simaizom jelentősen nagyobb mennyiségben van jelen. Mivel az elastikus rostok az érfal rugalmasságáért, a simaizom a kontrakcióért felelős, egyértelmű összefüggést látunk a nagyobb gravitációs stressznek kitett alsó

testféli vénák biomechanikai tulajdonságai és a kimutatott szövettani jellegzetességek között.

4. Az emberi vénák endotéliájában vizsgált elektronenz szekretoros vezikulumok sűrűségét 2,26%-nak találtuk. Az összes mintát tekintve megfigyelhető egy stabil 1,8-2,7%-os érték, amelynek hátterében egy egyelőre ismeretlen szabályozó mechanizmust feltételezünk.
5. A vezikulumok sűrűségét humán véna mintákban vizsgálva az állatkísérletes modellben tapasztaltaktól eltérő eredményt kaptunk. A felső és az alsó végtagi minták, illetve a krónikus ortosztatikus terhelésnek jelentősen különböző mértékben kitett kar és lábszári vénák eredményeit összehasonlítva nem mutatkozott statisztikailag szignifikáns különbség. A jelenséget a vizsgált vénák hemodinamikai terheléshez való korábbi (evolúciós) adaptációjával vagy az ember napi tevékenysége során a hidrosztatikai nyomás jelentős ingadozásával magyarázzuk.
6. Számottevő különbséget találtunk a különböző hemodinamikai terhelésnek kitett területről származó vénák vezikulumainak geometriájában. A lábszárból származó érminták granulumai nagyobbak és elongáltabbnak bizonyultak, mint a nyaki vénák vezikulumai. Feltételezzük, hogy ezt a különbséget az egyes régiók között a granulumok érési folyamatának fázisaiban fennálló különbségek vagy a vezikulumok szekretoros tartalmának eltérései okozzák. Mivel ezek a vezikulumok a hemosztázisban jelentős szereppel bíró ágenseket, illetve a biomechanikai szabályozásban fontos mediátorokat tartalmaznak, úgy gondoljuk, hogy az észlelt különbségek hozzájárulnak a felső- és az alsó végtagi vénák trombotikus és hemodinamikai tulajdonságainak eltéréseihez.



## Összefoglalás

*Bevezetés:* A gravitációs terhelés emberi vénákban jelentkező hosszú távú következményeiről átfogó vizsgálati eredmény kevéssé áll rendelkezésre. Kísérletes munkánk során ortosztatikus terhelésnek különbözőképpen kitett humán kis vénák strukturális és funkcionális tulajdonságait vizsgáltuk.

*Módszerek:* Érsebészeti beavatkozások során a felső vagy az alsó testfélről eltávolított kis, felületes vénákon végeztük vizsgálatainkat. A különböző testtájak vénáinak aktív és passzív biomechanikai tulajdonságait video angioszkópia segítségével hasonlítottuk össze. Szövetteni és immun-hisztokémiai módszereket alkalmazva vizsgáltuk a vénák felépítésének különbségeit. Az endotél szekretoros vezikulumainak sűrűségét elektronmikroszkópos képek morfometriás analízisével számítottuk ki. Statisztikai geometria módszerével hasonlítottuk össze a különböző testtájak endoteliális vezikulumainak nagyságrendi megoszlását.

*Eredmények:* A hemodinamikai terhelésnek különbözőképpen kitett vénák biomechanikai tulajdonságaiban számottevő különbséget találtunk. Szövetteni vizsgálataink igazolták, hogy a nagyobb ortosztatikus terhelésű lábszári vénákban az elasztikus elem és a simaizom jelentősen nagyobb mennyiségben van jelen. Az endotél sejtek szekretoros vezikulumainak sűrűsége 2,26%-nak bizonyult. A különböző területeken mért granulum sűrűség nem különbözött szignifikánsan egymástól. Jelentős eltérést találtunk a különböző testtájakról származó vénák vezikulumainak geometriájában. A lábszári vénák granulumai nagyobbak és elongáltabbak voltak, mint a felső testfélről származók.

*Következtetések:* A különböző humán vénák biomechanikai tulajdonságainak és szövetteni sajátosságainak az eltérései mind a gravitációs terheléshez való krónikus alkalmazkodás részjelenségei lehetnek. Az endoteliális vezikulumok stabil 1,8-2,7%-os sűrűsége egy egyelőre ismeretlen szabályozó mechanizmust feltételez. A gravitációs stressznek jelentősen különböző mértékben kitett vénák granulum sűrűségénél hiányzó különbség magyarázatául az emberek napi tevékenysége során jelentősen változó ortosztatikus terhelés szolgálhat. A vezikulumok geometriájában észlelt különbségek hozzájárulhatnak a felső- és az alsó végtagi vénák trombotikus és hemodinamikai sajátosságainak eltéréseihez.

## Summary

*Introduction:* The number of comprehensive studies about the consequences of gravitational load on human veins is quite low. We investigated and compared the structural and functional properties of human small veins exposed to different orthostatic stresses.

*Methods:* Small superficial veins from the upper or lower body were removed during vascular operations. We compared the active and passive biomechanical properties applying pressure angiography. Histology and immuno-histochemistry tests were used to investigate the structure of the veins. The density of endothelial secretory vesicles on electron-microscopic images was calculated by morphometric analysis. We compared the geometrical differences of endothelial vesicles from different regions by statistical methods.

*Results:* We found significant differences in the biomechanical properties of veins affected by remarkably different hemodynamic load. Proved by histological results the number of elastic sheets and the amount of smooth muscle is more abundant in leg veins. The density of secretory endothelial vesicles proved to be 2.26%. The difference between the densities of different regions was statistically insignificant. We found remarkable difference in the geometry of the granules from the neck and the leg. The vesicles from the leg proved to be greater and more elongated.

*Conclusions:* All the differences found in biomechanical and histological properties of the veins may be components of physiological adaptation mechanisms to long-term gravitational stress. The stable vesicular density of 1.8-2.7% rises the possibility of a currently unknown control mechanism. The lack of difference in the amount of endothelial dens vesicles from different areas may be the consequence of changing hydrostatic pressure during daily activity in human. The demonstrated characteristics of vesicular geometry might contribute to the differences of thrombotic and hemodynamic properties of leg and upper body veins.

## Irodalomjegyzék

Acsády Gy. Új kutatási területek a phlebológiában. Doktori értekezés. Budapest, 1992.

Acsády Gy. A vénabetegségek érsebészeti ellátása. In: Meskó É (szerk.), *Vascularis medicina*. Therapia kiadó, Budapest, 2004: 352-359.

Acsády Gy, Nemes A. Az érsebészet tankönyve. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2001: 157-183 és 191-227.

Andersson J, Thurin A, Thulesius O. (1996) Valvular function of peripheral veins after hyperemic dilation. *J Vasc Surg*, 23: 611-615.

Ando J, Yamamoto K. (2011) Effects of shear stress and stretch on endothelial function. *Antioxid Redox Signal*, 15: 1389-1403.

Anwar MA, Shalhoub J, Lim CS, Gohel MS, Davies AH. (2012) The effect of pressure-induced mechanical stretch on vascular wall differential gene expression. *J Vasc Res*, 49: 463-478.

Atta HM. (2012) Varicose veins: role of mechanotransduction of venous hypertension. *Int J Vasc Med*, 2012: 1-13.

Balakrishnan S, Pandhi P. (1997) Endothelins: A brief review. *Indian J Pharmacol*, 29: 281-288.

Benedek I. Hügieia. Az európai orvostudomány története. Gondolat, Budapest, 1990: 125-228.

Benigni JP, Cazaubon M, Kasiborski F, Taupin V, Mathieu M. (2004) Chronic venous disease in the male. An epidemiological survey. *Int Angiol*, 23: 147-153.

Berard X, Déglise S, Alonso F, Saucy F, Meda P, Bordenave L, Corpataux JM, Haefliger JA. (2013) Role of hemodynamic forces in the ex vivo arterialization of human saphenous veins. *J Vasc Surg*, 57: 1371-1382.

Bérczi V, Greene AS, Dörnyei G, Csengödy J, Hódi G, Kádár A, Monos E. (1992) Venous myogenic tone: studies in human and canine vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 263: H315-H320.

Bérczi V, Molnár AA, Apor A, Kovács V, Ruzics C, Várallyay C, Hüttl K, Monos E, Nádasy GL. (2005) Non-invasive assessment of human large vein diameter, capacity, distensibility and ellipticity in situ: Dependence on anatomical location, age, body position and pressure. *Eur J Appl Physiol*, 95: 283-289.

Bergan JJ. *The Vein Book*. Elsevier Inc., SanDiego, 2007: 1-46.

Bergan JJ, Pascarella L, Schmid-Schönbein GW. (2008) Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension. *J Vasc Surg*, 47: 183-192.

Bergan JJ, Schmid-Schonbein GW, Smith PD, Nicolaides AN, Boisseau MR, Eklof B. (2006) Chronic venous disease. *N Engl J Med*, 355: 488-498.

Bleeker MWP, De Groot PCE, Pawelczyk JA, Hopman MTE, Levine BD. (2004) Effects of 18 days of bed rest on leg and arm venous properties. *J Appl Physiol*, 96: 840-847.

Boisseau MR. (1997) [Venous valves in the legs: hemodynamic and biological problems and relationship to physiopathology]. *J Mal Vasc*, 22: 122-127.

Bouwens EA, Mourik MJ, van den Biggelaar M, Eikenboom JC, Voorberg J, Valentijn KM, Mertens K. (2011) Factor VIII alters tubular organization and functional properties of von Willebrand factor stored in Weibel-Palade bodies. *Blood*, 118: 5947-5956.

Brand FN, Dannenberg AL, Abbott RD, Kannel WB. (1988) The epidemiology of varicose veins: the Framingham Study. *Am J Prev Med*, 4: 96-101.

Brandherm I, Disse J, Zeuschner D, Gerke V. (2013) cAMP-induced secretion of endothelial von Willebrand factor is regulated by a phosphorylation/dephosphorylation switch in annexin A2. *Blood*, 122: 1042-1051.

Brinsuk M, Tank J, Luft FC, Busjahn A, Jordan J. (2004) Heritability of venous function in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24: 207-211.

Brookes ZL, Kaufman S. (2003) Myogenic responses and compliance of mesenteric and splenic vasculature in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284: R1604-R1610.

Caggiati A, Phillips M, Lametschwandtner A, Allegra C. (2006) Valves in small veins and venules. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 32: 447-452.

Chatterjee S, Fisher AB. (2014) Mechanotransduction in the endothelium: role of membrane proteins and reactive oxygen species in sensing, transduction, and transmission of the signal with altered blood flow. *Antioxid Redox Signal*, 20: 899-913.

Chien S. (2007) Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 292: H1209-H1224.

Convertino VA, Doerr DF, Stein SL. (1989) Changes in size and compliance of the calf after 30 days of simulated microgravity. *J Appl Physiol*, 66: 1509-1512.

Dardik A, Yamashita A, Aziz F, Asada H, Sumpio BE. (2005) Shear stress-stimulated endothelial cells induce smooth muscle cell chemotaxis via platelet-derived growth factor-BB and interleukin-1 $\alpha$ . *J Vasc Surg*, 41: 321-331.

Davies MG, Fulton GJ, Svendsen E, Hagen PO. (1999) Time course of the regression of intimal hyperplasia in experimental vein grafts. *Cardiovasc Pathol*, 8: 161-168.

Davies PF. (1995) Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev*, 75: 519-560.

De Ceunynck K, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K. (2013) Unwinding the von Willebrand factor strings puzzle. *Blood*, 121: 270-277.

Despopoulos A, Silbernagl S. *Color atlas of physiology* (6<sup>th</sup> edition). Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009.

Dobrin PB. (1978) Mechanical properties of arteries. *Physiol Rev*, 58: 397-460.

Dörnyei G, Monos E, Kaley G, Koller A. (1996) Myogenic responses of isolated rat skeletal muscle venules: Modulation by norepinephrine and endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 271: H267-H272.

Ducasse E, Giannakakis K, Speziale F, Midy D, Sbarigia E, Baste JC, Faraggiana T. (2008) Association of primary varicose veins with dysregulated vein wall apoptosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 35: 224-229.

Duffy SJ, New G, Tran BT, Harper RW, Meredith IT. (1999) Relative contribution of vasodilator prostanoids and NO to metabolic vasodilation in the human forearm. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 276: H663-H670.

Dunbar SL, Tamhidi L, Berkowitz DE, Shoukas AA. (2001) Hindlimb unweighting affects rat vascular capacitance function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 281: H1170-H1177.

Dvorak HF. (2010) Vascular permeability to plasma, plasma proteins, and cells: An update. *Curr Opin Hematol*, 17: 225-229.

Eiken O, Kölegård R. (2004) Comparison of vascular distensibility in the upper and lower extremity. *Acta Physiol Scand*, 181: 281-287.

Emeis JJ, Van Den Eijnden-Schrauwen Y, Van Den Hoogen CM, De Priester W, Westmuckett A, Lupu F. (1997) An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. *J Cell Biol*, 139: 245-256.

Enouri S, Monteith G, Johnson R. (2011) Characteristics of myogenic reactivity in isolated rat mesenteric veins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 300: R470-R478.

Evans CJ, Fowkes FG, Ruckley CV, Lee AJ. (1999) Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study. *J Epidemiol Community Health*, 53: 149-153.

Fann JJ, Sokoloff MH, Sarris GE, Yun KL, Kosek JC, Miller DC. (1990) The reversibility of canine vein-graft arterialization. *Circulation*, 82: IV9-18.

Fischer S, Nishio M, Dadkhahi S, Gansler J, Saffarzadeh M, Shibamiyama A, Kral N, Baal N, Koyama T, Deindl E, Preissner KT. (2011) Expression and localisation of vascular ribonucleases in endothelial cells. *Thromb Haemost*, 105: 345-355.

Fisher AB, Chien S, Barakat AI, Nerem RM. (2001) Endothelial cellular response to altered shear stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 281: L529-L533.

Floege J, Eitner F, Alpers CE. (2008) A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 19: 12-23.

Folkow B, Mellander S. (1964) Veins and venous tone. *Am Heart J*, 68: 397-408.

Freeman R, Lirofonis V, Farquhar WB, Risk M. (2002) Limb venous compliance in patients with idiopathic orthostatic intolerance and postural tachycardia. *J Appl Physiol*, 93: 636-644.

Fronek A, Criqui MH, Denenberg J, Langer RD. (2001) Common femoral vein dimensions and hemodynamics including Valsalva response as a function of sex, age, and ethnicity in a population study. *J Vasc Surg*, 33: 1050-1056.

Fu Q, Iwase S, Niimi Y, Kamiya A, Michikami D, Mano T, Suzumura A. (2002) Age-related changes in vasomotor reflex control of calf venous capacitance response to lower body negative pressure in humans. *Jpn J Physiol*, 52: 69-76.

Gebrane-Younes J, Drouet L, Caen JP, Orcel L. (1991) Heterogeneous distribution of Weibel-Palade bodies and von Willebrand factor along the porcine vascular tree. *Am J Pathol*, 139: 1471-1484.

Golledge J. (1997) Vein grafts: haemodynamic forces on the endothelium--a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 14: 333-343.

Golledge J, Turner RJ, Harley SL, Springall DR, Powell JT. (1997) Circumferential deformation and shear stress induce differential responses in saphenous vein endothelium exposed to arterial flow. *J Clin Invest*, 99: 2719-2726.

Granger JP. (2003) Endothelin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 285: R298-R301.

Greaney JL, Farquhar WB. (2011) Why do veins stiffen with advancing age? *J Appl Physiol*, 110: 11-12.

Groothuis JT, Poelkens F, Wouters CW, Kooijman M, Hopman MTE. (2008) Leg intravenous pressure during head-up tilt. *J Appl Physiol*, 105: 811-815.

Guazzi M, Lenatti L, Tumminello G, Guazzi MD. (2005) Effects of orthostatic stress on forearm endothelial function in normal subjects and in patients with hypertension, diabetes, or both diseases. *Am J Hypertens*, 18: 986-994.

Hainsworth R, Drinkhill MJ. (2006) Counterpoint: active venoconstriction is not important in maintaining or raising end-diastolic volume and stroke volume during exercise and orthostasis. *J Appl Physiol*, 101: 1264-1265; discussion 1265-1266, 1270.

Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12<sup>th</sup> edition. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2011: 157-212.

Halliwill JR, Minson CT, Joyner MJ. (1999) Measurement of limb venous compliance in humans: Technical considerations and physiological findings. *J Appl Physiol*, 87: 1555-1563.

Hayashi K, Mori K, Miyazaki H. (2003) Biomechanical response of femoral vein to chronic elevation of blood pressure in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 284: H511-H518.

Haynes WG, Webb DJ. (1998) Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J Hypertens*, 16: 1081-1098.

Hellsten Y, Nyberg M, Jensen LG, Mortensen SP. (2012) Vasodilator interactions in skeletal muscle blood flow regulation. *J Physiol*, 590: 6297-6305.

Hsieh HJ, Liu CA, Huang B, Tseng AH, Wang DL. (2014) Shear-induced endothelial mechanotransduction: the interplay between reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) and the pathophysiological implications. *J Biomed Sci*, 21: 3.

Hudlicka O, Dörnyei G, Monos E. (1995) The effect of long-term tilting on capillary supply in rat hindlimb muscles. *Acta Physiol Hung*, 83: 205-212.

Hughes AD, Clunn GF, Refson J, Demoliou-Mason C. (1996) Platelet-derived growth factor (PDGF): actions and mechanisms in vascular smooth muscle. *Gen Pharmacol*, 27: 1079-1089.

Hynynen MM, Khalil RA. (2006) The vascular endothelin system in hypertension--recent patents and discoveries. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 1: 95-108.

Jacot JG, Abdullah I, Belkin M, Gerhard-Herman M, Gaccione P, Polak JF, Donaldson MC, Whittmore AD, Conte MS. (2004) Early adaptation of human lower extremity vein grafts: wall stiffness changes accompany geometric remodeling. *J Vasc Surg*, 39: 547-555.

Jiang Z, Berceci SA, Pfahnl CL, Wu L, Goldman D, Tao M, Kagayama M, Matsukawa A, Ozaki CK. (2004) Wall shear modulation of cytokines in early vein grafts. *J Vasc Surg*, 40: 345-350.



- Kawanabe Y, Nauli SM. (2011) Endothelin. *Cell Mol Life Sci*, 68: 195-203.
- Kefaloyianni E, Coetzee WA. (2011) Transcriptional remodeling of ion channel subunits by flow adaptation in human coronary artery endothelial cells. *J Vasc Res*, 48: 357-367.
- Kiss AL (2012). Caveolae and the regulation of endocytosis. *Adv Exp Med Biol*, 729: 14-28.
- Kiss AL, Botos E. (2009) Endocytosis via caveolae: alternative pathway with distinct cellular compartments to avoid lysosomal degradation? *J Cell Mol Med*, 13: 1228-1237.
- Kohler TR, Kirkman TR, Clowes AW. (1989) The effect of rigid external support on vein graft adaptation to the arterial circulation. *J Vasc Surg*, 9: 277-285.
- Koller A, Dörnyei G, Kaley G. (1998) Flow-induced responses in skeletal muscle venules: Modulation by nitric oxide and prostaglandins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 275: H831-H836.
- Komarova Y, Malik AB (2009). Regulation of endothelial permeability via paracellular and transcellular transport pathways. *Annu Rev Physiol*, 72: 463-493.
- Komarova YA, Mehta D, Malik AB. (2007) Dual regulation of endothelial junctional permeability. *Sci STKE*, 2007: re8.
- Kölegård R, Eiken O. (2011) Distensibility in human veins as affected by 5 weeks of repeated elevations of local transmural pressure. *Eur J Appl Physiol*, 111: 3119-3125.
- Kölegård R, Mekjavic IB, Eiken O. (2009) Increased distensibility in dependent veins following prolonged bedrest. *Eur J Appl Physiol*, 106: 547-554.
- Krabbendam I, Jacobs LCA, Lotgering FK, Spaanderman MEA. (2008) Venous response to orthostatic stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 295: H1587-H1593.
- Krasinski Z, Biskupski P, Dzieciuchowicz L, Kaczmarek E, Krasinska B, Staniszewski R, Pawlaczyk K, Staniszewski M, Majewski P, Majewski W. (2010) The influence of elastic components of the venous wall on the biomechanical properties of different veins used for arterial reconstruction. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 40: 224-229.
- Kroeger K, Ose C, Rudofsky G, Roesener J, Hirche H. (2004) Risk factors for varicose veins. *Int Angiol*, 23: 29-34.

Kroger K, Ose C, Rudofsky G, Roesener J, Weiland D, Hirche H. (2003) Peripheral veins: influence of gender, body mass index, age and varicose veins on cross-sectional area. *Vasc Med*, 8: 249-255.

Labropoulos N, Mansour MA, Kang SS, Gloviczki P, Baker WH. (1999) New insights into perforator vein incompetence. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 18: 228-234.

Labropoulos N, Tiongson J, Pryor L, Tassiopoulos AK, Kang SS, Ashraf Mansour M, Baker WH. (2003) Definition of venous reflux in lower-extremity veins. *J Vasc Surg*, 38: 793-798.

Lagattolla NR, Donald A, Lockhart S, Burnand KG. (1997) Retrograde flow in the deep veins of subjects with normal venous function. *Br J Surg*, 84: 36-39.

Lee AJ, Evans CJ, Allan PL, Ruckley CV, Fowkes FG. (2003) Lifestyle factors and the risk of varicose veins: Edinburgh Vein Study. *J Clin Epidemiol*, 56: 171-179.

Lim CS, Davies AH. (2009) Pathogenesis of primary varicose veins. *Br J Surg*, 96: 1231-1242.

Lim CS, Gohel MS, Shepherd AC, Paleolog E, Davies AH. (2011) Venous hypoxia: a poorly studied etiological factor of varicose veins. *J Vasc Res*, 48: 185-194.

Lorant M, Nadasy GL, Raffai G, Monos E. (2003) Remodeling of the rat saphenous vein network in response to long-term gravitational load. *Physiol Res*, 52: 525-531.

Louisy F, Gaudin C, Oppert JM, Guell A, Guezennec CY. (1990) Haemodynamics of leg veins during a 30-days-6° head-down bedrest with and without lower body negative pressure. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 61: 349-355.

Lowenstein CJ, Morrell CN, Yamakuchi M. (2005) Regulation of Weibel-Palade body exocytosis. *Trends Cardiovasc Med*, 15: 302-308.

Lurie F, Kistner RL, Eklof B, Kessler D. (2003) Mechanism of venous valve closure and role of the valve in circulation: A new concept. *J Vasc Surg*, 38: 955-961.

Martinez R, Fierro CA, Shireman PK, Han HC. (2010) Mechanical buckling of veins under internal pressure. *Ann Biomed Eng*, 38: 1345-1353.

Maurins U, Hoffmann BH, Lösch C, Jöckel KH, Rabe E, Pannier F. (2008) Distribution and prevalence of reflux in the superficial and deep venous system in the general population - results from the Bonn Vein Study, Germany. *J Vasc Surg*, 48: 680-687.

Mehta D, Malik AB. (2006) Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev*, 86: 279-367.

Metcalf DJ, Nightingale TD, Zenner HL, Lui-Roberts WW, Cutler DF. (2008) Formation and function of Weibel-Palade bodies. *J Cell Sci*, 121: 19-27.

Michel CC. (1996) Transport of macromolecules through microvascular walls. *Cardiovasc Res*, 32: 644-653.

Michel CC, Curry FE. (1999) Microvascular permeability. *Physiol Rev*, 79: 703-761.

Michel CC, Neal CR. (1999) Openings through endothelial cells associated with increased microvascular permeability. *Microcirculation*, 6: 45-54.

Minshall RD, Tirupathi C, Vogel SM, Malik AB. (2002) Vesicle formation and trafficking in endothelial cells and regulation of endothelial barrier function. *Histochem Cell Biol*, 117: 105-112.

Molnár AÁ. A humán vénák biomechanikai tulajdonságainak in vivo, non-invazív vizsgálata. Doktori értekezés. Budapest, 2008.

Molnár AÁ, Apor A, Kiss RG, Préda I, Monos E, Bérczi V, Nádasy GL. (2008a) Újabb eredmények a vénás rendszer biomechanikájának kutatásában. *Orv Hetil*, 149: 1801-1809.

Molnár AÁ, Apor A, Kristóf V, Nádasy GL, Préda I, Hüttl K, Acsády G, Monos E, Bérczi V. (2006) Generalized changes in venous distensibility in postthrombotic patients. *Thromb Res*, 117: 639-645.

Molnár AÁ, Apor A, Kristóf V, Nádasy GL, Szeberin Z, Monos E, Acsády G, Préda I, Bérczi V. (2008b) Generalized alterations in the biomechanical properties of large veins in non-thrombotic thrombophilic young patients. *Int Angiol*, 27: 247-252.

Molnár AÁ, Tárnoki AD, Tárnoki DL, Kulcsár Z, Littvay L, Garami Z, Préda I, Kiss RG, Bérczi V, Lannert A, Monos E, Nádasy GL. (2013) Heritability of venous biomechanics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33: 152-157.

- Molnár GF, Nemes A, Kékesi V, Monos E, Nádasy GL. (2010) Maintained Geometry, Elasticity and Contractility of Human Saphenous Vein Segments Stored in a Complex Tissue Culture Medium. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 40: 88-93.
- Monahan KD, Ray CA. (2004) Gender affects calf venous compliance at rest and during baroreceptor unloading in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286: H895-H901.
- Monos E. (1992) A vénák fizioiógias funkciói és intrinsic szabályozásuk. *Orv Hetil*, 133: 1673-1684.
- Monos E. (1993) How does the vein wall respond to pressure?. *News Physiol Sci*, 8: 124-129.
- Monos E. (1996) Venous biomechanics: Physiology and measurement. *J Cardiovasc Diagn Proced*, 13: 147-154.
- Monos E. Hemodynamics. *Biomechanics of the blood circulation*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2011: 24-25 és 57-62.
- Monos E. A vénás rendszer élettana. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010: 5-84.
- Monos E, Bérczi V, Nádasy G. (1995) Local control of veins: Biomechanical, metabolic, and humoral aspects. *Physiol Rev*, 75: 611-666.
- Monos E, Contney SJ, Cowley AW, Jr., Stekiel WJ. (1989a) Effect of long-term tilt on mechanical and electrical properties of rat saphenous vein. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 256: H1185-1191.
- Monos E, Contney SJ, Cowley Jr AW, Stekiel WJ. (1989b) Electrical and mechanical responses of rat saphenous vein to short-term pressure load. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 256: H47-H55.
- Monos E, Contney SJ, Dornyei G, Cowley Jr AW, Stekiel WJ. (1993) Hyperpolarization of in situ rat saphenous vein in response to axial stretch. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 265: H857-H861.
- Monos E, Csengödy J. (1980) Does hemodynamic adaptation take place in the vein grafted into an artery? *Pflugers Arch*, 384(2): 177-182.

Monos E, Lóránt M, Dörnyei G, Bérczi V, Nádasy G. (2003a) Long-term adaptation mechanisms in extremity veins supporting orthostatic tolerance. *News Physiol Sci*, 18: 210-214.

Monos E, Lóránt M, Dörnyei G, Bérczi V, Nádasy G. (2003b) Tartós orthostaticus toleranciát támogató élettani mechanizmusok a végtagi vénákban. *Orv Hetil*, 144: 1725-1730.

Monos E, Loránt M, Fehér E. (1997) Mechanisms of vascular adaptation to long-term orthostatic gravitational loading. *J Gravit Physiol*, 4: P39-40.

Monos E, Lóránt M, Fehér E. (2001) Influence of long-term experimental orthostatic body position on innervation density in extremity vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 281: H1606-H1612.

Monos E, Raffai G, Dörnyei G, Nádasy GL, Fehér E. (2007) Structural and functional responses of extremity veins to long-term gravitational loading or unloading-lessons from animal systems. *Acta Astronaut*, 60: 406-414.

Nádasy GL, Polenov S, Chernyavskaya G, Monos E, Hamar J, Kovách AGB. (1988) Norepinephrine induced contractions of the feline mesenterial vein under oxygenized and hypoxic conditions in vitro. *Acta Physiol Hung*, 71: 45-50.

Nádasy GL, Veress M, Monos E. (1996) In vivo dose-response characteristics of endothelin-1: studies on rat saphenous vein. *Acta Physiol Hung*, 84: 1-7.

Nádasy GL. Elements of vascular mechanics. In: Goswami T (szerk.) *Human musculoskeletal mechanics*. Intech, 2012: 211-244.

Navarro TP, Delis KT, Ribeiro AP. (2002) Clinical and hemodynamic significance of the greater saphenous vein diameter in chronic venous insufficiency. *Arch Surg*, 137: 1233-1237.

Neglén P, Thrasher TL, Raju S. (2003) Venous outflow obstruction: An underestimated contributor to chronic venous disease. *J Vasc Surg*, 38: 879-885.

Nelson PR, Yamamura S, Kent KC. (1997) Platelet-derived growth factor and extracellular matrix proteins provide a synergistic stimulus for human vascular smooth muscle cell migration. *J Vasc Surg*, 26: 104-112.

- Nemes A. A vénák betegségei és kezelésük. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1986.
- Nicholson A, Scott J. Intervention for chronic lower limb ischaemia. Saunders Elsevier, London, 2009: 47-74.
- Ogawa K, Imai M, Ogawa T, Tsukamoto Y, Sasaki F. (2001) Caveolar and intercellular channels provide major transport pathways of macromolecules across vascular endothelial cells. *Anat Rec*, 264: 32-42.
- Olsen H, Länne T. (1998) Reduced venous compliance in lower limbs of aging humans and its importance for capacitance function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 275: H878-H886.
- Osterberg K, Mattsson E. (2005) Intimal hyperplasia in mouse vein grafts is regulated by flow. *J Vasc Res*, 42: 13-20.
- Owens CD. (2010) Adaptive changes in autogenous vein grafts for arterial reconstruction: Clinical implications. *J Vasc Surg*, 51: 736-746.
- Owens CD, Rybicki FJ, Wake N, Schanzer A, Mitsouras D, Gerhard-Herman MD, Conte MS. (2008) Early remodeling of lower extremity vein grafts: inflammation influences biomechanical adaptation. *J Vasc Surg*, 47: 1235-1242.
- Owens CD, Wake N, Jacot JG, Gerhard-Herman M, Gaccione P, Belkin M, Creager MA, Conte MS. (2006) Early biomechanical changes in lower extremity vein grafts--distinct temporal phases of remodeling and wall stiffness. *J Vasc Surg*, 44: 740-746.
- Perrin M, Ramelet AA. (2011) Pharmacological treatment of primary chronic venous disease: rationale, results and unanswered questions. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 41: 117-125.
- Predescu D, Palade GE. (1993) Plasmalemmal vesicles represent the large pore system of continuous microvascular endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 265: H725-H733.
- Predescu D, Vogel SM, Malik AB. (2004) Functional and morphological studies of protein transcytosis in continuous endothelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 287: L895-L901.

Predescu SA, Predescu DN, Malik AB. (2007) Molecular determinants of endothelial transcytosis and their role in endothelial permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 293: L823-L842.

Raffai G, Csekő C, Nádasy G, Monos E. (2010) Vestibular control of intermediate- and long-term cardiovascular responses to experimental orthostasis. *Physiol Res*, 59: 43-51.

Raffai G, Fehér E, Nádasy G, Paku S, Pogány G, Tímár F, Szende B, Monos E. (2005) Selective suppression of an endothelin and platelet-derived growth factor containing vesicular system in endothelium of rat saphenous vein by long-term orthostasis. *J Vasc Res*, 42: 157-164.

Raffai G, Fehér E, Nádasy G, Paku S, Pogány G, Tímár F, Szende B, Monos E. (2004) Vacuole formation in the endothelium of rat extremity vessels depends on fixation techniques and vessel type. *Pathol Res Pract*, 200: 41-46.

Raffai G, Lódi C, Illyés G, Nádasy G, Monos E. (2008) Increased diameter and enhanced myogenic response of saphenous vein induced by two-week experimental orthostasis are reversible. *Physiol Res*, 57: 175-183.

Ray CJ, Marshall JM. (2009) Nitric oxide (NO) does not contribute to the generation or action of adenosine during exercise hyperaemia in rat hindlimb. *J Physiol*, 587: 1579-1591.

Rippe B, Rosengren BI, Carlsson O, Venturoli D. (2002) Transendothelial transport: The vesicle controversy. *J Vasc Res*, 39: 375-390.

Rodríguez-Pascual F, Busnadiego O, Lagares D, Lamas S. (2011) Role of endothelin in the cardiovascular system. *Pharmacol Res*, 63: 463-472.

Rondaj MG, Bierings R, Kragt A, van Mourik JA, Voorberg J. (2006) Dynamics and plasticity of Weibel-Palade bodies in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26: 1002-1007.

Rothe CF, Hainsworth R, Drinkhill MJ. (2006) Point:Counterpoint: Active venoconstriction is/is not important in maintaining or raising end-diastolic volume and stroke volume during exercise and orthostasis. *J Appl Physiol*, 101: 1262-1266.

Rusch NJ, Wooldridge TA, Kulig CC, Almassi GH, Nicolosi AC, Olinger GN, Boerboom LE. (1995) Reactivity of human saphenous veins at arterial perfusion pressures. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110: 1005-1012.

Russell FD, Skepper JN, Davenport AP. (1998) Human endothelial cell storage granules - A novel intracellular site for isoforms of the endothelin-converting enzyme. *Circ Res*, 83: 314-321.

Sándor T. (2010) Krónikus vénás betegség - ahogy ma látjuk. *Orv Hetil*, 151: 131-139.

Sansilvestri-Morel P, Rupin A, Badier-Commander C, Kern P, Fabiani JN, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM. (2001) Imbalance in the synthesis of collagen type I and collagen type III in smooth muscle cells derived from human varicose veins. *J Vasc Res*, 38: 560-568.

Schrage WG, Joyner MJ, Dinunno FA. (2004) Local inhibition of nitric oxide and prostaglandins independently reduces forearm exercise hyperaemia in humans. *J Physiol*, 557: 599-611.

Schubert R, Lidington D, Bolz SS. (2008) The emerging role of Ca<sup>2+</sup> sensitivity regulation in promoting myogenic vasoconstriction. *Cardiovasc Res*, 77: 8-18.

Skelly CL, Meyerson SL, Curi MA, Loth F, Schwartz LB. (2001) The hemodynamics of vein grafts: measurement and meaning. *Ann Vasc Surg*, 15: 110-122.

Stewart PA. (2000) Endothelial vesicles in the blood-brain barrier: Are they related to permeability? *Cell Mol Neurobiol*, 20: 149-163.

Stooker W, Gök M, Sipkema P, Niessen HWM, Baidoshvili A, Westerhof N, Jansen EK, Wildevuur CRH, Eijssman L. (2003) Pressure-Diameter Relationship in the Human Greater Saphenous Vein. *Ann Thorac Surg*, 76: 1533-1538.

Szentiványi Jr M, Bérczi V, Hüttl T, Reneman RS, Monos E. (1997) Venous myogenic tone and its regulation through K<sup>+</sup> channels depends on chronic intravascular pressure. *Circ Res*, 81: 988-995.

Takase S, Pascarella L, Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW. (2004) Hypertension-induced venous valve remodeling. *J Vasc Surg*, 39: 1329-1334.



Tanner FC, Largiader T, Greutert H, Yang Z, Luscher TF. (2004) Nitric oxide synthase gene transfer inhibits biological features of bypass graft disease in the human saphenous vein. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 127: 20-26.

Tuchsen F, Hannerz H, Burr H, Krause N. (2005) Prolonged standing at work and hospitalisation due to varicose veins: a 12 year prospective study of the Danish population. *Occup Environ Med*, 62: 847-850.

Valentijn KM, Sadler JE, Valentijn JA, Voorberg J, Eikenboom J. (2011) Functional architecture of Weibel-Palade bodies. *Blood*, 117: 5033-5043.

Valentijn KM, Valentijn JA, Jansen KA, Koster AJ. (2008) A new look at Weibel-Palade body structure in endothelial cells using electron tomography. *J Struct Biol*, 161: 447-458.

Valentijn KM, Van Driel LF, Mourik MJ, Hendriks GJ, Arends TJ, Koster AJ, Valentijn JA. (2010) Multigranular exocytosis of Weibel-Palade bodies in vascular endothelial cells. *Blood*, 116: 1807-1816.

Vanhoutte PM. (2000) Say NO to ET. *J Auton Nerv Syst*, 81: 271-277.

Vischer UM, Barth H, Wollheim CB. (2000) Regulated von Willebrand factor secretion is associated with agonist-specific patterns of cytoskeletal remodeling in cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 883-891.

Wali MA, Eid RA. (2001) Smooth muscle changes in varicose veins: An ultrastructural study. *J Smooth Muscle Res*, 37: 123-135.

Weibel ER. (2012) Fifty years of Weibel-Palade bodies: The discovery and early history of an enigmatic organelle of endothelial cells. *J Thromb Haemost*, 10: 979-984.

Xiao Y, Huang Z, Yin H, Lin Y, Wang S. (2009) In vitro differences between smooth muscle cells derived from varicose veins and normal veins. *J Vasc Surg*, 50: 1149-1154.

Zervides C, Narracott AJ, Lawford PV, Hose DR. (2008) The role of venous valves in pressure shielding. *Biomed Eng Online*, 7: 8.

Zupančič G, Ogden D, Magnus CJ, Wheeler-Jones C, Carter TD. (2002) Differential exocytosis from human endothelial cells evoked by high intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration. *J Physiol*, 544: 741-755.

## Saját publikációk jegyzéke

### *A disszertációhoz kapcsolódó publikációk*

Gósi G, Monori-Kiss A, Nádasy Gy, Durkó A, Tőkés A, Monos E, Acsády Gy. (2014) Comparison of passive and active biomechanical properties of human cervical and leg veins. *Int Angiol*, 33: 348-356.

Gósi G, Nádasy Gy, Raffai G, Fehér E, Szeberin Z, Monos E, Acsády Gy. (2014) Regional differences in statistical geometry of endothelial dense granules in human extremity veins. *Plebology*, pii: 0268355514547715.

### *A disszertációtól független publikációk*

Gósi G, Huoránszki F. (2001) Sigmoidoscopically induced pneumatosis cystoides coli in Crohn's disease manifested by collar subcutaneous emphysema. *Endoscopy*, 33: 293.

Gósi G, Münch Z. (2002) A Fournier-gangrénáról; a korai diagnózis a legjobb ellenszer. *Magy Seb*, 55: 27-30.

Gósi G, Pencz Z, Laczkó Á, Acsády Gy. (2005) Takayasu arteritis; ritka kórkép, különleges megfontolások. *Magy Seb*, 58: 9-15.

Gósi G, Járányi Zs, Entz L, Acsády Gy. (2005) Congenitalis arterio-venosus fistula talaján kialakult artéria brachialis álaneurysma esete. *Magy Seb*, 58: 328-330.

Gósi G, Járányi Zs, Gálffy I, Bérczi V, Entz L. (2007) Alsó végtagi obliteratív elváltozások egyidejű, katéteres és sebészeti megoldása. *Érbetegségek*, 14: 17-20.

Gósi G. (2010) Kommentár: Risk of deep vein thrombosis following a single negative whole-leg compression ultrasound. *JAMA*, 2010, 303(5): 438-445. *Motesz*, XVIII: 52-54.

Gósi G. (2014) A diabétesz és a perifériás érbetegség-az alapellátás jelentősége. *Magyar Csaláadorvosok Lapja*, 3: 3-4.

Mihók A, Imreh D, Gósi G, Benyó I. (1999) Iatrogen colorectalis perforációk – az elmúlt 20 év eseteinek áttekintése. *Magy Seb*, 52: 75-79.

Imreh D, Mihók A, Gósi G, Benyó I. (1999) A gastrointestinalis carcinoid tumorokról. *Magy Seb*, 52: 39-45.

Polner K, Gósi G, Vas SI, Kalina I, Acsády Gy. (2009) Management of abdominal and iliac artery aneurysms by stent-graft implantation in a patient on CAPD. *Clin Nephrol*, 71: 359-362.

Kovács H, Fehérvári M, Forgó B, Gósi G, Oláh Z, Csobay-Novák Cs, Entz L, Szeberin Z. (2014) Elektív infrarenalis aortaaneurysma sebészi kezelésének korai és késői mortalitása és morbiditása. *Magy Seb*, 67: 297-303.

## **Köszönetnyilvánítás**

Köszönettel és hálával tartozom Acsády György Professzor Úrnak, témavezetőmnek, aki nemcsak az érsebészet, de a kutatás útján is elindított, mindvégig ösztönzött és támogatott.

Tisztelettel köszönöm Monos Emil Professzor Úrnak, hogy témánk élettani hátterével megismertetett, egyedülálló ismereteivel segítette a kísérletek elméleti kidolgozását.

Nagyon hálás vagyok Nádasy György Docens Úr önzetlen, derűs segítségével a kísérletek gyakorlati kivitelezésében, a publikációk és a disszertáció elkészítésében.

Köszönöm szépen főnökeimnek, Entz László Professzor Úrnak, Laczkó Ágnes Főorvos Asszonynak, Szeberin Zoltán Docens Úrnak, hogy klinikai munkám mellett lehetővé tették, hogy a kísérleteket lefolytassuk és a kutatásra időt fordíthassak.

Nagyon köszönöm munkatársaimnak, Fehér Erzsébet Professzor Asszonynak, Tőkés Anna-Mária Doktornőnek, Monori-Kiss Annának és Raffai Gábornak az eredmények kiértékelésében végzett fáradtságot nem kímélő, pontos munkájukat.

Köszönettel tartozom Oravec Ildikónak, Burka Évának és Cserhádi Évának gyors és gondos technikai segítségükért.

Őszinte szívvel hálás vagyok családomnak. Szüleimnek köszönöm, hogy alaposságban és kitartásban példát mutattak nekem és mindig feltétel nélkül támogattak. Szeretettel vagyok hálás feleségemnek, Eszternek gondoskodásáért, megértéséért és bölcsességéért. Gyermekeinknek, Andrásnak, Adélnak, Emmának és Júliának köszönöm, hogy elfoglaltságom mellett sok feladatot és még több örömet adtak.