

**Végtagvénák biomechanikai tulajdonságainak
változásai angiogenetikus folyamatok során:
Lábvarikozítás betegség tüneteinek létrehozása
patkány modellen**

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Patai Bernadett Bettina

Semmelweis Egyetem

Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők: Dr. Nádasy György, egyetemi docens
Dr. Monos Emil †, professor emeritus
Dr. Hetthéssy Judit, PhD, egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók: Dr. Németh Norbert, DSc, egyetemi tanár
Dr. Banga Péter, PhD, egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: ifj. Dr. Sótonyi Péter, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kókény Gábor, PhD, egyetemi docens
Dr. Debreczeni Béla, PhD, főorvos

Budapest
2021

BEVEZETÉS

A humán láb varikozitás betegség a magyar lakosság, mintegy egynegyedét érintő klinikai kórkép, melynek előfordulási aránya évről-évre nő, így napjainkban már népbetegségként is említhetjük. Egyre gyakrabban jelenik meg az elválkozás 30 évnél fiatalabb körében is, tekintettel az életstílus, munkakörülmények változására és a testmozgás hiányára. A 60 év feletti betegeknel súlyosabb megjelenésekkel találkozhatunk, mely akár az életet is veszélyeztető állapotot idézhet elő.

A várható élettartam növekedésével a kardiovaszkuláris megbetegedések aránya is rohamosan nő, mely az ér-és szívsebészetre is egyre nagyobb munkát ró. Tekintettel arra, hogy az intervenciós terápiákban a vénák, donor szervként funkcionálnak; a patológiásan átépült visszerek a műtétek sikerességét is nagymértékben determinálhatják.

A vénás betegség - progresszív jellegéből adódóan – az idő múlásával egyre nagyobb terhelést jelent a társadalom számára, ezért kiemelt jelentősége van a vénás rendszer fiziológiai és patofiziológiai működés

feltárásának. A kórkép, tehát nem csak esztétikai, hanem súlyos funkcionális problémát is okoz az idő előrehaladtával, melyre még nem létezik hatásos terápia; eddigi ismereteink alapján csupán a primer és szekunder prevenció enyhítheti vagy legalábbis lassíthatja a folyamatot.

CÉLKITŰZÉS

Megelőző munkánkban bemutattuk, hogy patkány saphena vénájára helyezett krónikus szűkítő klippel a humán lábvarikozitás betegség korai fázisaira jellemző bőr alatti retikuláris kollaterális vénás hálózatot lehet kialakítani. Ezen kollaterális ágak további hemodinamikai és szövettani tanulmányozása képezte jelen munkánk első részét. Mai felfogás szerint viszont a humán varikózus malformációkat az esetek többségében a mélyvénák felől érkező refluxos, inkompetens perforáns ágak táplálják. Ilyen ágak kialakítása és a megjelenés patomechanizmusának feltárása volt jelen munkánk további részeinek célkitűzése.

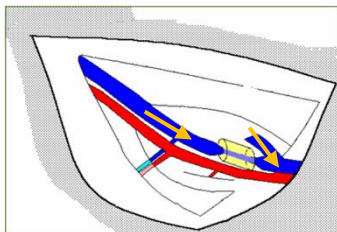
A felszíni varikózuss hálózatok elemzésekor a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Milyen beavatkozásokkal érhető el varikózus jellegű felszín alatti vénás hálózat kialakulása patkánykísérletekben?
2. Pontosan milyen morfológiai eltérések jelennek meg?
3. Ezek az eltérések, milyen kvalitatív és kvantitatív szövettani változásokkal járnak?
4. Milyen következtetések vonhatók le belőlük a patomechanizmusra vonatkozóan?
5. Klinikai útmutatóként milyen gyakorlati tanácsokat javasolhatunk?

MÓDSZEREK

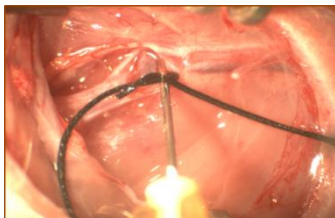
Patkányok bal oldali véna saphena magnáján (**sematikus rajza 1.ábrán**), valamint a vena femoralis profundáján (**2.ábra**) végeztünk krónikus szűkítéseket 4-32 hétig. A

saphena obstrukciók alkalmával gravitációs terheléseket is alkalmaztunk az utolsó 4 hétben (**3.ábra**).



1.ábra

Sematikus ábra. Szűkítő klip alkalmazása a kezelt vena saphena magna főágán a vena femoralis profunda beömlése előtt.



2.ábra

Vena femoralis profunda parciális okklúziója (26 G tűre kalibrált)



3.ábra

Tilt ketrec. 45 fokban döntött zárt tér, melyben a patkányok csak fel-le képesek mozogni, megfordulni nem tudnak. Huzamos fennállás esetén fokozott gravitációs terhelés szimulálására szolgál.

Altatásban, illetve cadaveren a saphena vena poplitealis ágába, illetve a femorális profunda distalis szakaszába mikrokanült vezetünk és Batson 17 festékkel, valamint

metilénkéssel festett heparinos fiziológiás sóoldattal retrográd töltést végeztünk (**4.ábra**).



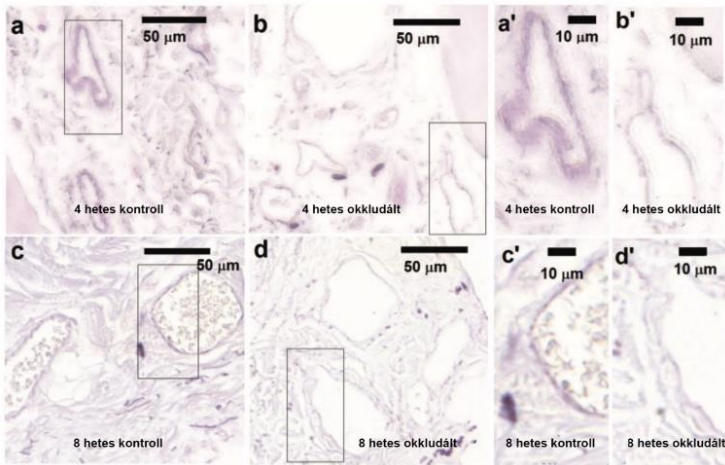
4.ábra

A vena femoralis profunda retrográd mikrokanülözés után. Metilénkéssel festett Krebs-Ringer oldattal való feltöltés. A comb és a láb izmai felszínén, a bőr felpreparálást követően, a megfestődött kollaterális hálózat kirajzolódásának felkeresése.

Több mint 100 patkány kezelt és kontroll oldalát vizsgáltuk meg. Az újonnan megjelent vénák falát kvantitatív szövettani technikákkal tanulmányoztuk elasztikus rostokra, kollagénnre, simaizom aktinra, sejtszótódásra és makrofág beszűrődésre.

EREDMÉNYEK

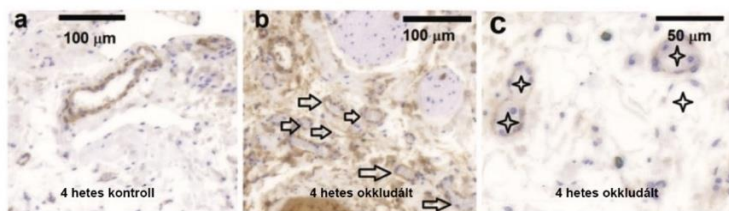
A vena saphena magna részleges leszorításának hatására megkerülő kollaterális vénás hálózat alakult ki, melynek mechanikai gyengeségét a csökkent elasztika (**5.ábra**), inhomogén simaizom aktin (SMA) festődés (**6.ábra**), a fokozott sejtosztódás (**7/b ábra**) és monociter beszűrődés (**7/d ábra**) mutatta.



5. ábra

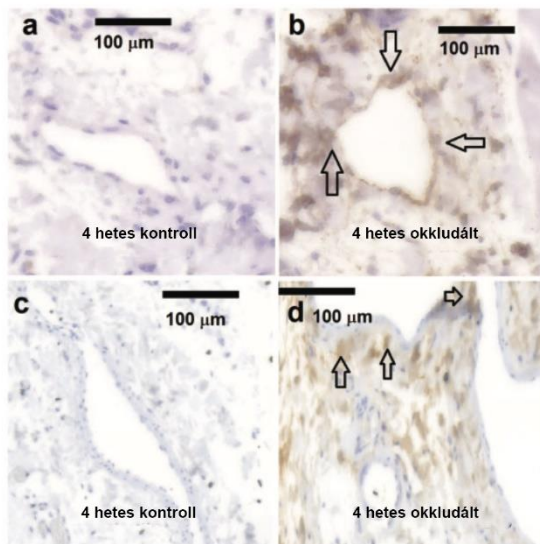
A nagy saphena véna környezetében resorcin-fuchsinnal (RF) festett, a femoralis tengelyre merőlegesen vágott érátmetszetek. **a**: kontroll oldal, 4 hét elteltével, skála: 50 mikrométer, **b**: okkludált oldal, 4 hét elteltével, skála: 50 mikrométer, **c**: kontroll oldal, 8 hét elteltével,

skála: 50 mikrométer, **d**: okkludált oldal, 8 hét elteltével, skála: 50 mikrométer, **a'**, **c'**: kontroll oldalak kinagyított képei 4 és 8 hét elteltével, skála: 10 mikrométer, **b'**, **d'**: okkludált oldalak kinagyított képei 4 és 8 hét elteltével, skála: 10 mikrométer. Az újonnan kialakult kollaterálisokban csökkent RF festődés figyelhető meg



6. ábra

SMA immunhisztokémián alapuló vizsgálat a comb kötőszövet régiójában 4 hét okklúziót követően. **a**: néhány kisvéna keresztmetszete a kontroll oldalon, **b**, **c**: nagyszámú vénakeresztmetszet (nyilak és csillagok jelölik) látható az okkludált oldalon. Skála: 100 mikrométer **a** és **b** esetében, 50 mikrométer **c** esetében. Kevesebb specifikus fehérje látható a falban 4 hetes okklúzió alkalmával.

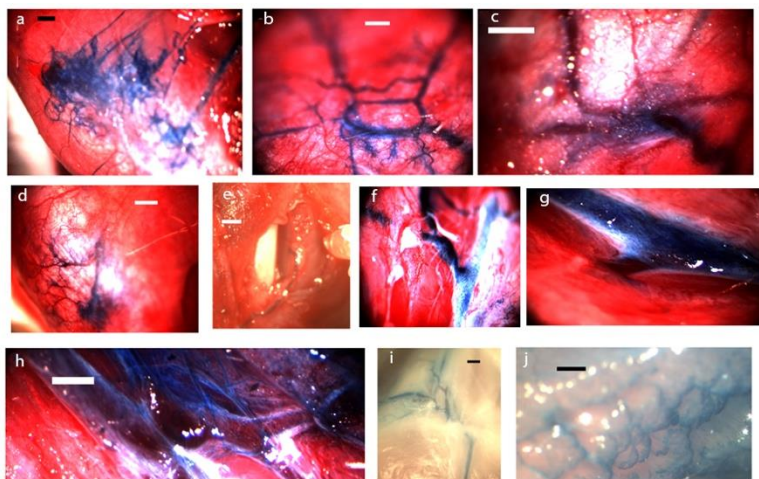


7. ábra

A femoralis tengelyre merőlegesen vágott érátmetszetek a nagy saphena véna környezetében, 4 hetes okklúziós periódust követően, Ki67 és CD68 immunhisztokémia. **a:** Nagy, Ki67 pozitív magok nélküli, terület figyelhető meg a kontroll oldalon. **b:** Magas sejtosztóási aktivitás (Ki67) látható az újonnan kialakult vénák falában az okkludált oldalon (nyilakkal jelölve). **c:** A kontroll oldalon hiányzó makrofág aktivitás. **d:** Megnövekedett makrofág aktivitás (CD68) látható a vénás vaszkulogenezis területén az okkludált oldalon. Skála: 100 mikrométer.

A mélyvénás rendszerbe fecskendezett festékanyag a krónikusan okkludált oldalon csaknem minden esetben

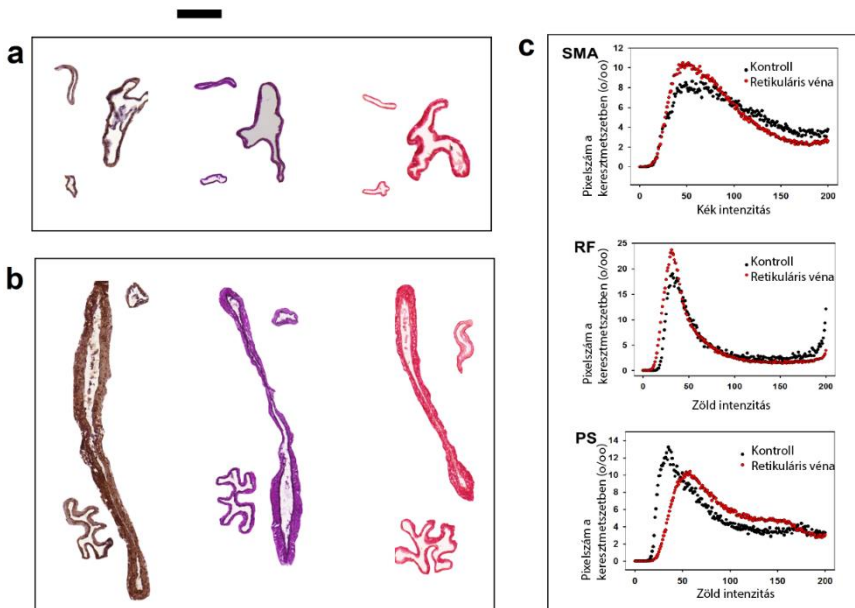
megjelent a felszínen és a felületes saphena rendszerbe ürült. A vena femoralis profunda részleges elzárásának eredményeképpen jellegzetesen vastagabb *refluxos perforáns ágak* (**8/e-f ábra**) alakultak ki, melyek a felszínen tipikus *pókvénákba* vagy *retikuláris vénás konglomerátumokba* torkolltak (**8/a-d ábra**). Ezekből, már az eredeti ortográád felszíni kisvénák továbbították a vért a saphena fő törzse felé (**8/g ábra**). Rajtuk azonban gyakran találtunk *lokális tárgulatokat*, valamint *szabálytalan, girbe-gurba lefutású szakaszokat* (**8/g-j ábra**).



8. ábra

A vena femoralis profunda krónikus részleges okklúziója. A distalis mélyvéna, metilénkéssel történő infundálása után. **a, b, c:** Retikuláris vénás plakkok és pókvénák az inkompetens perforánsok felszínén (vonallal jelölve), **d:** A beinjektált festék, a felületen levő retikuláris vénás hálózatban koncentráldott az okkludált oldalon. **e:** Inkompetens perforáns, mely útját mikropreparáció után követjük nyomon. **f:** Inkompetens perforáns. **g:** Varikózusan dilatált, deformált saphena véna, melybe kollaterális ág torkollik, jelentős nyomásterhelést eredményezve. **h, i, j:** Nagy, varikózus vénák az okkludált oldalakon. Méretarányos beosztások: 1000 μm (**a, d**), 500 μm (**b, c, e, h, j**)

A szövettani vizsgálatok 32 hetes okklúziós intervallumot követően a retikuláris vénás plakkokban szélesen dilatált vénákat mutattak; melyek falában elegendő mennyiségű simizom aktin és elasztin volt, de ilyen hosszú idő elteltével kevesebb kollagént tartalmaztak.



9. ábra

Kontroll oldalon a vena saphena magna ágának keresztmetszete, szövettani vizsgálat **(a)**, a kezelt oldalak retikuláris véna plakk rendszerének patológiásan kitágult és megerősödött falainak keresztmetszeti képei, szövettani vizsgálat **(b)**. Balról jobbra haladva, SMA immunhisztokémián alapuló (barna, DAB); rezorcin-fuchsin (magenta, elasztika) és picro-sirius (piros, kollagén) festések. Méretezés: 100 μ m. Az érfal összetételének kvantitatív elemzése a kontroll oldalakon és a kezelt oldalakon patológiásan átépült retikuláris vénák esetében **(c)**. A rezorcin-fuchsin (elasztika) lila színe, a picro-sirius (kollagén) piros színe elnyomta a zöld RGB komponenst. A simaizom aktin immunhisztokémia DAB festékének barna színe a zöld és a kék komponens elnyomását eredményezte.

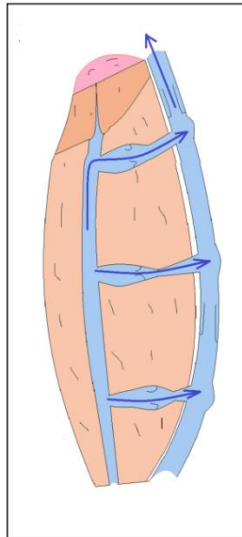
KÖVETKEZTETÉSEK

1. A vena saphena főágának parciális szűkítésével egy megkerülő kollaterális hálózat alakul ki, melynek morfológiai megjelenése a retikuláris vénákat idézi. A kollaterális hálózat gyarapodása folyamatos a parciális okklúziót követő 4-8-12 hét során. A megjelenő kisvénás hálózat a vena saphena felől retrográd módon töltődik, bennük kompetens billentyűk nincsenek.
2. Ha a parciális saphena szűkítést gravitációs terheléssel kombináltuk, csaknem minden esetben észlelhetők voltak lokális tágulatok, unduláló lefutás, mely nagymértékben emlékeztetett a varikózus vénák morfológiai megjelenésére.
3. A vena femoralis profunda krónikus szűkítésével egyértelmű superficialis varikózus jellegű hálózat alakítható ki a patkányok alsó végtagján. Ezek között egyértelmű retikuláris vénákból álló plakkok, pókvénák, és unduláló lefutású, lokális tágulatokat tartalmazó vénaszakaszok is felismerhetőek voltak.
4. Először sikerült létrehozni a láb varikozitás betegség

állatkísérletes modelljét

5. Bizonyítottuk, hogy nem egyedül a nyomásterhelés, hanem a nyomás- és áramlási terhelés együttesen váltja ki a varikozításra jellemző eltéréseket

Álló testhelyzetben a tartós izometriás összehúzódás akadályozhatja a vér továbbjutását a mélyvénás rendszerbe és az inkompetens perforánsok, az időleges izomösszehúzódások alkalmával; a vért, a saphena rendszerbe irányítják. A plusz áramlás és nyomás terhelés deformálja aztán a nagyobb saphena vénákat is **(10. ábra)**.



10. ábra

Sematikus ábra. Erős izometriás inhomogén izomkontrakció (mélybarna) gyakorlatilag elzárja a felfelé (anterográd) irányuló áramlást a mélyvénás főágban. Distalisabban levő izomtömeg (világosbarna) időszakos vagy enyhébb összehúzódása, ellenkező (retrográd) irányba pumpálja a vért a felszíni hálózat felé.

Összefoglalva, a vénás áramlás akadályait kikerülő újonnan kialakuló kollaterális kisvénás hálózat az áramlás-indukálta morfológiai átépülés folyamata közben van és ez a vénafal átmeneti gyengülésével jár. Ilyenkor, a vénafal nehezebben tud a magasabb vénás nyomás morfológiai dilációs hatásának ellenállni. Megfigyeléseink szerint ez lehet egy fontos tényező, amely varikózus morfológia kialakulásához vezet.

A patomechanizmus ezen folyamatainak felismerése jelentős segítséget adhat a gyógyszeres és sebészeti beavatkozások tervezéséhez, a prevenciót segítő életmód kialakításához.

A Szerző publikációi ezen a területen

1. G. Dörnyei, J. Hetthéssy, B. Patai, F. Balogh, A. Némethi, M. Jackel, Z. Varady, E. Monos, G.L. Nadasy, Combined effect of chronic partial occlusion and orthostatic load on the saphenous vein network: a varicosity model in the rat. *Phlebology*, 2020;35:92-101.
doi:10.1177/0268355519852557
2. B. Patai, G. Dörnyei, AM. Tokes, J. Hetthessy, A. Fees, Gy. Nadasy, Initiation of reticular and spider veins, incompetent perforantes and varicose veins in the saphenous vein network of the rat. *Scientific Reports*, 2020, doi:10.1038/s41598-020-71982-z

A Szerző publikációi más területen

1. B.B. Patai, N. Péterfy, Z. Sági, N. Szakács, J.R. Hetthéssy, Papillary Endothelial Hyperplasia (Masson Tumor) of the hand. Surgical and pathological consideration from seven cases using new vascular markers. *Pathology and Oncology Research*, 2020 doi:10.1007/s12253-020-00838-8

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel és hálával tartozom Dr. Nádasy György Egyetemi Docens Úrnak, témavezetőmnek, aki nemcsak a mikrosebészet útján indított el, hanem a kutatás magas fokát is megmutatta, mindvégig ösztönzött és támogatott. Kitartóan, lankadatlan dinamizmussal és jókedvvel segített a kísérletek gyakorlati kivitelezésében, a publikációk és a disszertáció elkészítésében.

Tisztelettel köszönöm megboldogult Dr. Monos Emil Professzor Úrnak, hogy témánk élettani hátterével megismertetett, egyedülálló ismereteivel hozzásegített a későbbi kísérleteink elméleti tovább gondolásához.

Köszönöm Dr. Hetthéssy Judit Egyetemi Adjunktus Asszonynak, hogy manualitásom fejlesztését elősegítette és mindig ösztönzően hatott tudományos tevékenységeimre.

Köszönöm Dr. Dörnyei Gabriella Professzor Asszonynak szakmai tapasztalatait és kísérletekhez adott segítségét.

Köszönöm Dr. Várady Zoltán Főorvos Úrnak a modern érsebészeti alapok megismerését.

Tisztelettel köszönöm Dr. Benyó Zoltán
Professzor Úrnak mindenkori támogatását, segítségét és
kedvességét.

Hálásan köszönöm Dr. Hunyady László
Professzor Úrnak a kísérleteink lefolytatásához nyújtott
segítségét és támogatását.

Köszönöm szépen főnökeimnek, Dr. Zsiros Lajos
Tanár Úrnak és Dr. Várhelyi Levente Főorvos Úrnak,
hogy baleseti sebészeti munkám mellett lehetővé tették,
hogy a kísérleteket lefolytathassuk.

Nagyon köszönöm munkatársaimnak, Balogh
Fruzinának és Alexander Feesnek az eredmények
kiértékelésében végzett fáradságot nem kímélő, pontos
munkájukat; valamint Blaskó Péternek a kiértékelésekben
és a szerkesztésben nyújtott állandó mérnöki precizitását.

Köszönettel tartozom Oravec Ildikónak,
előkísérletünk során adott gyors és gondos technikai
segítségéért.

Őszinte szívvel hálás vagyok családomnak.
Szüleimnek köszönöm, hogy alaposágban és kitartásban
példát mutattak nekem és mindig feltétel nélkül
támogattak! Édesanyámnak, Dr. Patai Kálmánnénak

(Katalinnak) köszönöm, hogy állandó szeretetet és derűt sugárzott felém, valamint folyamatos nyugodt légkört biztosított nekem. Édesapámnak, Dr. Patai Kálmánnak, köszönöm bölcs tanácsait, ösztönző szavait, támogatását, és szeretetét. Páromnak köszönöm megértését és lankadatlan szeretetét. Szeretettel gondolok testvéreimre, akik megértették időhiányom okát, de ennek ellenére folyamatos megértést tanúsítottak felém.

/OTKA TO 32019, OTKA TO 42670, NVKP_16-1-2016-0004AF valamint a Semmelweis Egyetem Általános Orvosi Kar Dékánjának támogatásával/