

Válasz Prof. Dr. Koller Ákos, egyetemi tanár, MTA doktora, bírálataira.

Tisztelt Professzor Úr!

Mindenekelőtt szeretném megköszönni bírálói véleményét, kérdéseit és kritikai megjegyzéseit. Köszönöm, hogy MTA doktori értekezésem átnézésére és értékelésére időt és energiát szánt. Kérdéseire, megjegyzéseire az alábbiakban válaszolok.

1. A 4-ik fejezetet illetően a bírálókat szerintem nem kellően részletes az MR/MRI történeti bemutatása és a magyar előzmények említése is hiányos.

Köszönöm az észrevételt és egyetértek abban, hogy több előzmény felsorolása még teljesebbé tette volna ezt a fejezetet. A disszertáció terjedelmét nem akartam jobban növelni ezért tűnhet hiányosnak a bevezető. A professzor úr által említettek mellett Richard R. Ernst NMR spektroszkópiai munkásságát idéztem volna még, aki 1991-ben kapott kémiai Nobel-díjat. Továbbá magyar vonatkozásban Jolesz Ferenc professzor urat (aki szintén MTA külsős tag volt, Bostonban full-professor) kellett volna még mindenképp említeni, aki rengeteget tett azért, hogy a magyar orvosok számára az MRI módszer elsajátítható legyen.

2. A 4-ik fejezetben a spin szó korábbi bevezetése érthetőbbé tette volna a jelenség leírását.

Köszönöm a kritikai észrevételt, mellyel teljesen egyetértek. Az MR jelenségről beszélni azonban nem könnyű fenomenológiai szinten. Az ember valóban bajban van, hogy ez egyes kvantummechanikai fogalmakat milyen sorrendben vezesse be, hogy az MR jelenség leírása követhető legyen.

3. A 4-ik fejezetben a referenciák hiányoznak a bevezetőből és az ábrák eredete nincs feltüntetve.

Ahogy a bírálóknak is szerepel a 4-ik fejezet stílusa tankönyvszerű, és az MR jelenség és a mérési/képző technikák leírást tartalmazza. A disszertációban már így is 311 hivatkozás szerepel, ezt nem akartam növelni tudománytörténeti hivatkozásokkal, melyek csak a bevezetésre vonatkoztak volna. Az összes ábra, ami a disszertációban szerepel vagy általam vagy munkatársaim által vizsgált betegek MRI képei, vagy általunk készített rajzok (pl.: MR

szekvenciák sematikus ábrái, függvényillesztések, spin gimnasztika a STEAM szekvencia esetében etc.)

4. Megjegyzés: Mivel az Értekezésben számos MRI-vel kapcsolatos új módszertani és klinikai kutatásról van szó a „Cékitűzés” fejezet előtt jó lett volna pár mérés technikai és klinikai hipotézist felállítani, amit aztán „tesztelni” lehetett volna és összeesengett volna az Értekezés végén található „Új eredmények” című fejezetben leírtakkal.

A mérés technikai és klinikai hipotézisek felállítása valóban nem szerepel a célkitűzések előtt. Mivel a disszertációban megjelenő eredmények nagyon szerteágazóak, így a hipotézisek az egyes részfejezetek bevezetőinek a végén találhatóak.

5. A 6.-ik fejezetben az agy ödémához vezető kórélettani okok részletesebb ismertetése hiányolható.

Egyetértek a bírálóval, valóban csak az agy ödéma alaptípusait ismertettem a bevezetőben és azok kórélettani hátterét kevésbé mutattam be. A tanulmány célja nagyon leegyszerűsítve csak a víztartalom mérése volt, és a víztartalom emelkedéshez vezető okokat nem vizsgáltuk. Szintén terjedelmi korlát miatt nem kerültek leírásra a kórélettani folyamatok, amik a szöveti ödémához vezetnek.

6. A T1 és M0 mérések in vivo szórásának oka mérés technikai vagy élettani?

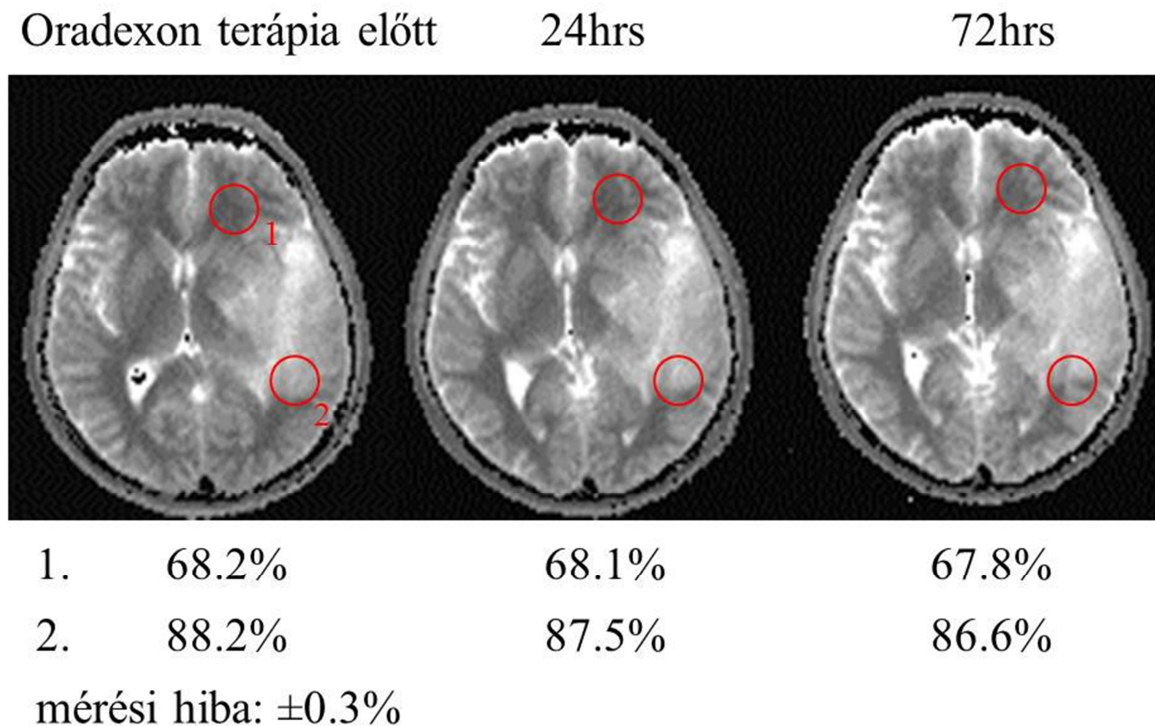
Véleményem szerint mindkét ok jelentősen hozzájárul a tapasztalt szóráshoz. Még a homogénnek tartott gél fantomokban is jelentős szórás tapasztalható: spektroszkópiai módszer esetében 0,5-2% körüli a szórás, míg képkalkotással a szórás 5-8%-ra emelkedik. Technikailag a képkalkotás miatt a pontatlanság nő. Ehhez társul az alanyok egyéni hidráltóságától, szöveti jellemzőitől függő szórás.

7. Betegek esetében végeztek-e terápia nyomon követésére in vivo víztartalom vizsgálatot? Vannak-e erre vonatkozó irodalmi adatok?

Oradexon hatását vizsgálták agyi metastasis és meningeoma esetében :Andersen C, Astrup J, Gyldensted C. Quantitative MR analysis of glucocorticoid effects on peritumoral edema associated with intracranial meningiomas and metastases. J Comput Assist Tomogr. 1994 Jul-Aug;18(4):509-18.

Az in vivo víztartalom mérési módszert sikerült a klinikumba átültetni. Néhány beteg esetében a peritumoralis ödéma csökkenését mértük Oradexon terápia hatására.

In vivo víztartalommmérés



1.ábra Oradexon terápia hatása peritumorális ödémában

Klinikai haszon azonban direktben nem keletkezett, ugyanis például koponya trauma esetében sokszor a vérzésből eredő artefaktumok zavarták a mérést. Peritumoralis ödéma esetében pedig agynyomás csökkentőt mindenképpen kap a beteg.

A beállított módszernek annyi gyakorlati hasznát vettük, hogy Benzamil-hydroclorid hatását in vivo követni tudtuk hyponatraemia indukált agyödémában patkányokban. (Steier R et al. The influence of benzamil hydrochloride on the evolution of hyponatremic brain edema as assessed by in vivo MRI study in rats. Acta Neurochir (Wien). 2011 Oct;153(10):2091-7.

8. Az MR-el látható agyi metabolitok élettani/kórélettani szerepe?

Az agyban MR spektroszkópiával detektálható metabolitok közül az N-acetil-aszpartát az idegsejtekben helyezkedik el, ezért idegsejt markernek is nevezhetjük. A kolin jel forrása a glicerofoszfokolin, a foszfokolin és a foszfatidil-kolin, melyek a sejt membránokban helyezkednek el. A kreatin pedig a sejtek energia háztartásában vesz részt. A myoinozitol/inozitol egyrészt a sejtmembránok alkotóelemei, másrészt, mint a sejt térfogatát

szabályozó ozmolitikum található meg, elsősorban az astrocyta sejtekben. Így, például gliális daganatokban a kolin szintje megemelkedik, az N-acetil-aszpartát szintje pedig csökken, illetve a daganat típusától függően az inozitol koncentrációja is emelkedhet. Az idegsejtek pusztulásával járó kórképekben, például Alzheimer betegségben, az N-acetil-aszpartát szintje relatíve csökken.

9. A 46.ábrán (egy adott Tesla érték mellett) a passzív és aktív ujjmozgatás BOLD jeleinek amplitúdói között nem volna-e elvárható különbség?

Az ábrán a BOLD jelváltozások szerepelnek a szenzomotoros kéregben. Hasonló 4% körüli jelemelkedést tapasztaltunk, mind az aktív kézujjmozgatás, mind a passzív kézujjmozgatás esetében. A BOLD jelváltozás sajnos csak indirekten mutatja az idegi aktivitást a haemodinamikai válaszon keresztül, így elképzelhető, hogy mindkét esetben maximális véráramlás változás és relatív oxigén túlkínálat következett be az idegi aktivitás kiterjedtségétől, erősségétől függetlenül.

10. Mivel a szerző 7-12 fejezetekben meglehetősen hosszan fejti ki a MRI technika és annak méréstechnikai és statisztikai nehézségeit, kérdezem, mennyire kvantifikálhatók és összehasonlíthatók az MRI jelek, ill. az azok által jelzett agyi víztartalom, véráramlás, stb., változások az egyes betegek különböző állapotainak esetében, ill. különböző betegek összehasonlításában?

Az MRI jelek kvantifikálhatósága sajnos nehezen véghez vihető feladat. Magát az MR-jelet azaz a minta által indukált áramot lehet kvantifikálni, de igen nagy szórást mutat az alap mágneses tér inhomogenitása (B_0) és gerjesztéshez használt változó mágneses tér inhomogenitása miatt (B_1). Ezért ezeket a körülményeket kiküszöbölendő, több mérést végeznek és egy relatív skálán mért érték változásait tudják megbízhatóan számszerűsíteni. Így tudnak T_1 , T_2 időt vagy diffúziós konstanst mérni. A víztartalom mérés csak ezekből következtetett érték empirikus összefüggés alapján. A BOLD jel egy relatív változást mutat csak, ezt kvantifikálni nem lehet, pláne egyenes arányba állítani az idegsejtek működésével. A BOLD jel leginkább csak az aktiváció helyét mutatja illetve azt, hogy az aktiváció mennyire erős. A BOLD által generált aktivációs térképek statisztikára építenek fals pozitív és fals negatív eredményekkel. Az eredmények persze további statisztikával összevethetőek, de nem valódi kvantifikált fizikai mértékegységeket tartalmaznak. Összefoglalva, betegek esetében az

anatómiai viszonyokat az MRI kiválóan mutatja, igazi kvantitatív összehasonlításra kevésbé alkalmas, általában a változásokra épülő paraméterek változásait tudjuk csak összevetni.

11. A funkcionális MRI epilepsziás roham alatti fejezetben, bár a szerző több helyen is említ idő- és térbeli változásokat, nem világos kiszámítható-e az epilepsziás roham terjedési sebessége, és ha igen változik-e a roham alatt? Pl. a 49. ábrán lévő BOLD jelcsúcsok közötti időeltolódás a különböző agyi régiókban használható volna-e az agyi aktivitás terjedésének sebességének megbecslésére (pl. mm/sec-ban)?

Az epilepsziás roham terjedése véleményem szerint nem számítható ki a vizsgálat alapján. Az MRI-vel kimutatott BOLD jel változások összefüggése a rohammal illetve azok eredete sem teljesen egyértelmű. A pre-iktális BOLD aktiváció például 26 másodperc volt egy másik tanulmányban (Storti et al. Spatial and Temporal EEG-fMRI Changes During Preictal and Postictal Phases in a Patient With Posttraumatic Epilepsy. Clin EEG Neurosci. 2015;247-52.). Egy összefoglaló Review tanulmány alapján EEG kombinált fMRI-ben BOLD jelek detektálhatók a roham klinikai manifesztációjától függetlenül is (Gotman JI, Pittau F. Combining EEG and fMRI in the study of epileptic discharges. Epilepsia. 2011;52:38-42.). Ahogy a tanulmány egyik zárómondatában szerepel: nagyon nehéz a neurovascularis csatolást értelmezni ezekben az esetekben. Valószínűleg a BOLD aktiváció még nem jelent manifesztálódó klinikai aktivációt. A BOLD válasz alatt kezdődhet az idegsejtek kisülésének szinkronizálódása, ha ez átlép egy küszöbértéket csak akkor lesz klinikailag is megjelenő epilepsziás aktivitás.

12. Összehasonlíthatók ezek az agyi aktivitás hullámok (ami az MRI-ben valójában áramlással hozható kapcsolatba) az állatkísérletekben igen régóta vizsgált, de emberben is megfigyelt “cortical spreading depression” hullámokhoz (elektromos aktivitás) ill. véráramlás változással?

Sajnos nem egyértelmű a cortical spreading depression és epilepsziás agyi aktivitás kapcsolata. CSD megfigyelhető az epilepszia előtt, alatt és után is. Nem világos szintén, hogy a CSD potenciózza vagy éppen gátolja az epilepsziás aktivitást. (Kramer et al. Interplay between Cortical Spreading Depolarization and Seizures. Stereotact Funct Neurosurg. 2017;95(1):1-5.)

Állatkísérletekben kimutatták, hogy a cortical spreading depression (CSD) jelenséget az MRI-vel szimultán mérhető diffúziós konstans (ADC) és BOLD válasz követi. A depolarizációt ADC csökkenés majd BOLD jel emelkedés követi (James et al. *Cortical spreading depression in the gyrencephalic feline brain studied by magnetic resonance imaging J Physiol.* 1999 Sep 1; 519(Pt 2): 415–425.). A CSD okozta BOLD válasz NMDA glutamate receptor antagonistával (MK-801) teljesen eltüntethető (Shatillo et al. *Involvement of NMDA receptor subtypes in cortical spreading depression in rats assessed by fMRI. Neuropharmacology.* 2015 Jun;93:164-70). Viszont az asztrocytákból és idegsejtekből egyaránt származó kalcium emelkedés negatív BOLD választ is indukálhat (Wang et al. *Brain-state dependent astrocytic Ca²⁺ signals are coupled to both positive and negative BOLD-fMRI signals. Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Feb 13;115(7):E1647-E1656). A betegünk esetében, akinél az epilepsziás aktivitás szinte folyamatos volt, véleményem szerint nem lehet direkt összefüggést tenni a CSD és a tapasztalt BOLD jel változások között.

13. A 14-ik fejezet (Strukturális agyi károsodás kimutatása MRI-vel enyhe koponyasérülésben) bevezetésében is, ha nem is túl sok, de pár alapkutatási cikket, review-t érdemes lett volna idézni, hogy azok eredményei összevethető legyenek a klinikai mérések során a traumás agyi sérülés (TBI) MRI-vel mérhető eredményivel, mintegy egymást kontrolálva.

Valóban számos alapkutatásokat bemutató közlemény létezik, melyek alátámasztják eredményeinket. Például enyhe koponyasérülés, agykamra növekedést és szürkeállomány csökkenést idéz elő fiatal patkányokban (Goddeyne et al. *Repetitive mild traumatic brain injury induces ventriculomegaly and cortical thinning in juvenile rats. J Neurophysiol.* 2015 May 1;113(9):3268-80). Másik példa: a tanulmányunkban megfigyelt diffúziós változások patkányokban is előidézhetők enyhe koponyasérülést követően (Li et al. *Spatiotemporal changes in diffusion, T2 and susceptibility of white matter following mild traumatic brain injury. NMR Biomed.* 2016 Jul;29(7):896-903.).

14. Az MRI jel szinten az eredmények nagy precizitással vannak jellemezve, de azok jelentésének lefordítása a klinikai képre, vagy a háttérben lévő mechanizmusokra, nem meggyőző. Mi az MRI jelek mechanisztikus specificitása (hemodinamikai, agyi aktivitási, stb., szinten)? Várható-e a jövőben e tekintetben fejlődés?

Az MRI által mért diffúziós konstans és frakcionális anizotrópia változások specificitása alacsony, hiszen hasonló irányú változások figyelhetők meg számos, más agyi

kórfolyamatban. A közleményünkben bemutatott diffúziós konstans és frakcionális anizotrópia változások hátterét nemrég állatkísérletben vizsgálták (Harris et al *Bi-directional changes in fractional anisotropy after experiment TBI: disorganization and reorganization?* *Neuroimage*. 2016 Jun; 133: 129–143.). A diffúziós konstans emelkedés és frakcionális anizotrópia csökkenés szövettani vizsgálatokkal az axonok dezintegrációjával hozható összefüggésbe. Az axonok dezintegrációjának hátterében pedig valószínűleg a trauma hatására ébredő nyíró erők tehetők felelőssé. A nyíró erők kalcium beáramlást idéznek elő, amik hatnak a kalcium-mediálta (pl. Calpain) lebomlási folyamatokra (Maneshi et al. *A Threshold Shear Force for Calcium Influx in an Astrocyte Model of Traumatic Brain Injury* *J Neurotrauma*. 2015 Jul 1; 32(13): 1020–1029.). A jövőbeni fejlődés véleménye szerint abban várható, hogy az MRI kísérleteket mind gyakrabban egyesítik szövettani, elektrofiziológiai és haemodinamikai vizsgálatokkal.

15. Várható-e, hogy több esetszám esetén a szerző munkáiban is kimutatható lesz majd szorosabb kapcsolat a MRI képek és a klinikai kép között?

*Jelenleg futó OTKA pályázatom egyik célkitűzése az MRI korrelált prognózis becslés az SWI képek alapján. A diszkusszióban felvetett lézió progresszió és kimenetel közötti kapcsolatról szóló közleményről nem tudok. A lézió szám és a prognózis közötti összefüggésről vannak csak ismereteim szerint adatok (pl.: Yamaguchi et al., *Microbleeds as a prognostic factor for acute subdural hematoma. Neurol Med Chir (Tokyo)*2013;53(5):318-22.; vagy Spitz et al., *Detecting lesions after traumatic brain injury using susceptibility weighted imaging: a comparison with fluid-attenuated inversion recovery and correlation with clinical outcome. J Neurotrauma*. 2013 Dec 15;30(24):2038-50).*

16. Elképzelhető-e, hogy az agyi mikrovérzéseknél kialakuló vas-depositok mennyisége, azok időbeli változása megbecsülhető lesz az egyes betegekben, ill. a vas mennyisége a klinikai képpel korrelálható-e?

*Az agyi vas-depozitok mennyisége szintén csak indirekt mérhető SWI segítségével. Az agyban keletkező vérzések után a haemoglobinnál felszabaduló vas ionok toxikusak és facilitálják az oxidatív stressz folyamatokat, végső soron idegszöveti degenerációt idéznek elő (Connor JR. *Iron transport proteins in the diseased brain. J Neurol Sci* 2003;207(1-2):112–113.). Enyhe koponyasérülésben rossz prognózist jelent a vas depositok detektálása (Nisenbaum EJ, , Novikov DS, , Lui YW. *The presence and role of iron in mild traumatic brain injury: an imaging perspective. J Neurotrauma* 2014;31(4):301–307). A repetitív, enyhe koponyasérülés*

krónikus időszakában, a vas depozitok koncentráció emelkedése kognitív károsodásokkal áll összefüggésben (Lu et al. Iron Deposition Is Positively Related to Cognitive Impairment in Patients with Chronic Mild Traumatic Brain Injury: Assessment with Susceptibility Weighted Imaging. Biomed Res Int. 2015; 2015: 470676. Published online 2015 Dec 20.).

17. Érdemes lenne-e ugyanazon betegeknél non-invazív transzcraniális doppler (TCD) méréseket is elvégezni az agyi véráramlás megbecslésére és azt az MRI eredményekkel korrelálni?

A transcranialis doppler vizsgálat előnye, hogy non-invazív, szinte bármikor elvégezhető, és nem szükséges a sokszor kritikus állapotú beteg szállítása a CT-be vagy MRI-be.

Sajnos, a transcranialis doppler vizsgálat is, mint általában az ultrahang vizsgálatok, sokszor szubjektívek. A betegek 10%-ban a vizsgálat az anatómiai viszonyok miatt nem végezhető el megbízhatóan. Ugyanakkor kevés irodalmi adatot találtam, és TCD-t főleg CT vizsgálattal próbálták korrigáltatni (Glaser et al. Through the looking glass: early non-invasive imaging in TBI predicts the need for interventions Trauma Surg Acute Care Open. 2016; 1). Súlyos koponyasérülés esetében tehát lehet jelentősége a progresszió megítélésre, enyhe koponyasérülés esetében véleményem szerint kevésbé várható kimutatható változás a TCD vizsgálatokkal.

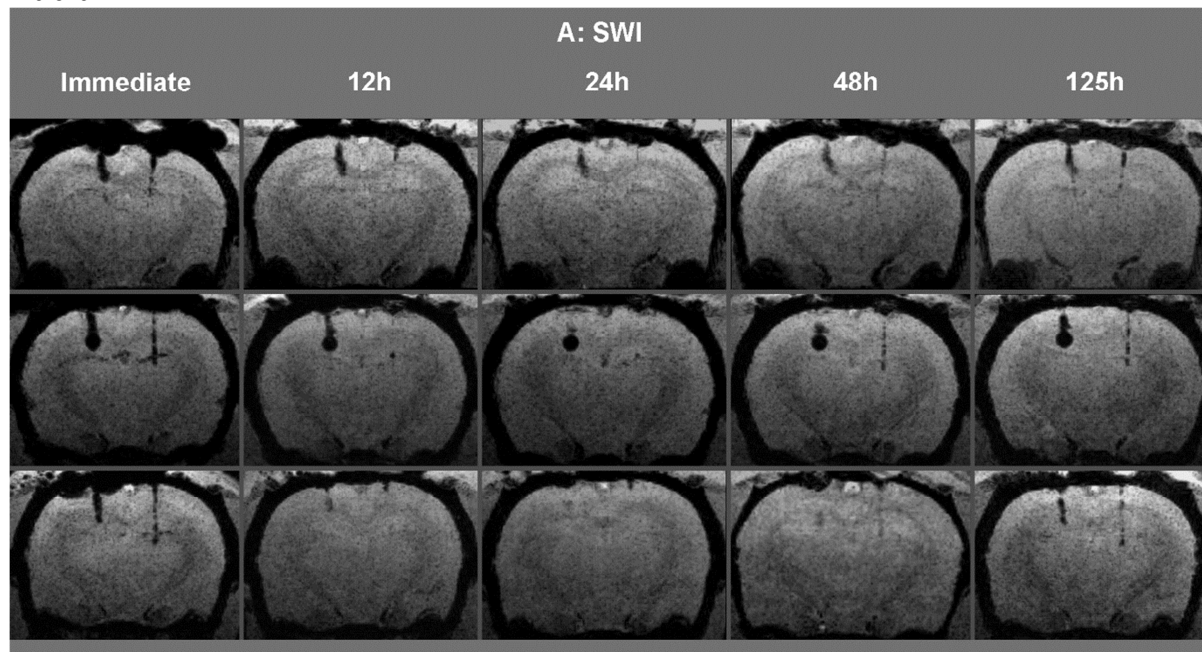
18. Az Értekezésben 2016-ig vannak felsorolva a szerző publikációi (a benyújtás idejének megfelelően). Van-e a szerzőnek ezen a területen újabb közleménye 2017/2018-ban?

A koponyatraumás betegek MRI vizsgálatait tovább folytattuk. Kimutattuk, hogy mind az SWI-vel, mind a hagyományos T1,T2, FLAIR súlyozással detektálható elváltozások korrelációt mutatnak a normálnak tűnő fehérállomány diffúziós eltéréseivel: a fehérállományban axon károsodás detektálható a lézió számtól függően (Toth A, Kornyei B, Kovacs N, Rostas T, Buki A, Doczi T, Bogner P, Schwarcz A Both hemorrhagic and non-hemorrhagic traumatic MRI lesions are associated with the microstructural damage of the normal appearing white matter. BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 340: pp. 106-116. (2018)).

A legutóbbi OTKA pályázatunkban pedig a mikrovérzések megjelenésének időbeli változásait is vizsgáljuk állatkísérletekben. Patkány agyban 159 és 447 mikrométer vastagságú mikrotűvel agyi sértést hoztunk létre, majd szuszeptibilitás súlyozott képkalkotással vizsgáltuk az indukált mikrovérzések változásait. Az eredmények alapján a szuszeptibilitás súlyozott

képalkotással azonnal látszanak a mikrovérzések, majd 12-24 óra után a mikrovérzések eltűnnek az SWI képeken, majd 48 és 125 órás méréseknél a mikrovérzések újból láthatóak. Nyilván nem a vérzés tűnik el (ezt szövettani vizsgálatokkal igazoltuk), hanem a vérzések MR karakterisztikája változik a szuszeptibilitás súlyozott képalkotás során.

2 ábra



2 ábra A: SWI képek 3 patkány esetében, azonnal a mikrotűvel végzett sértés után illetve a kontroll időpontokban. Jól látszik hogy 12-24 óránál a lézió eltűnik majd újra megjelenik a képeken.

Bízom abban, hogy Professzor Úr válaszaikat szakmailag megalapozottnak tartja, s támogatja az értekezés nyilvános vitára bocsátását.

Pécs, 2018. július 31.

Tisztelettel és köszönettel,

Prof. Dr. Schwarcz Attila

Idegsebészeti Klinika

Pécsi Tudományegyetem