

Válasz
Prof. Dr. Bogár Lajos egyetemi tanár Úr
bírálatára

Tisztelt Professzor Úr!

Köszönöm szépen, hogy elvállalta az opponensi teendőket és időt szánt a disszertációm értékelésére. Köszönöm az igazán megismerő véleményét és bátorító kritikáit.

Az írásmód kapcsán a következetességre törekedtem, hiszen az anatómiai elnevezések, műtéti típusok kapcsán óhatatlanul a latin forma került elő és ehhez igazodva próbáltam konzekvens maradni.

A feltett kérdésekre az alábbiakban szeretnék válaszolni.

- 1. „Az állatkísérletes és a humán vérminták – tárolás hatására bekövetkező – mikrореológiai változásainak összehasonlítása fontos következtetéseket adhat. Sajnos a humán kísérlet módszere különbözött az állatkísérletekhez képest, de az sejthető, hogy a CD patkányok és a beagle kutyák átlagos vörösvérsejt-aggregációja 25-70%-kal csökken 4-8 °C-on 24 óra alatt, ezzel szemben az emberi sejtek e paramétere mindössze 10%-ot mérséklődik. Vajon milyen védő, élettani tényezők okozzák ezt a faji különbséget?”***

A humán vérmintákon végzett vizsgálatok módszertanában mutatkozó különbségek mellett hasonlóság is volt a két kísérlet között, hiszen a vörösvérsejt aggregációt mindkét tanulmány esetében Myrenne aggregométerrel mértük. Az összehasonlításnál azonban különbséget jelentett a deformabilitás meghatározására alkalmazott kétféle ektacytometer (Rheoscan D-200 és LoRRca). Mindkét tanulmányban a vörösvérsejt aggregációs paraméterek változtak a legérzékenyebben, de a vizsgált fajok között különböző mértékben. A faji különbségekre vonatkozó egységes magyarázat nem ismert még az irodalomban. Az elmúlt három-négy évtizedben az újabb és újabb mérőmódszerek megjelenésével és módszertani finomításával párhuzamosan több tanulmány is született különböző magyarázatokat keresve a fajok közti vörösvérsejt aggregatio és aggregabilitási különbségekre, amely a micro-rheológiai paraméterek között a legszínesebb változatosságot mutatja. A sejthalak, a fibrinogén-vörösvérsejt interakciók, a sejtfelszíni glycocalyx összetétele mellett az érrendszer struktúrája és a haemodinamikai paraméterek tekintetében mutatkozó faji különbségek, az állatok életmódja (atletikus, szedentarius), valamint táplálkozás módja (növényevő, húsevő,

mindenevő) is szerepet játszhat e különbözőségeik kialakításában.¹⁻³ Ismert az is, hogy laboratóriumi vizsgálatok során az állatoktól származó vérminták érzékenyek a környezeti hatásokra, a hőmérsékletre, a mechanikus traumára.⁴ Elképzelhető, hogy a patkányban és kutyában hűtés hatására 24 óra alatt is 25-70%-kal csökkenő vörösvérsejt aggregációs értékek kialakításában mindezeknek szerepe lehet. Élettani magyarázatként irodalmi adat hiányában feltételezés csak, hogy ha valóban *in vivo* is kimutatható ez a változás, akkor annak a környezeti adaptáció tekintetében lehet szerepe. A vörösvérsejt aggregatio csökkenés összességében a szöveti perfusio szempontjából kedvező, hiszen a fokozott aggregatio az áramlási ellenállást növeli.⁵ Ezért feltételezhető, hogy a megfigyelt jelenség hűvös, hideg környezetben kedvező hatású faktor is lehet. Bár a vizsgált emlősfajok testhőmérséklete szabályozott, állandó, a bőr és a végtagok, illetve általában az akrális területek szöveteiben és így azok érhalózatában a hőmérséklet jelentősen eltérhet a maghőmérséklettől. Annyi tudható, hogy hideg környezetben élő állatok, mint például egyes foka vagy bálna fajok esetén a vörösvérsejt aggregatio alacsonyabb értékeket mutat más emlősfajokkal összehasonlítva. Bár ebben az életmódjukat jellemző merülés hatása is szerepet játszhat. A Jeges-tenger partjainál élő gyűrűsfókák vörösvérsejt aggregációja például mérhetetlenül alacsony.^{6,7}

2. ***„Érdekes különbség figyelhető meg a 30. és a 31. ábrák összehasonlításával. Ugyanis a patkány-, kutya-, sertés- és ember-vörösvérsejtek centrifugálásának különböző g-értékei szinte egyező haladványú nyírófeszültség-elongációs index összefüggéseket mutatnak. Ezzel szemben az ozmotikus gradiens ektacitometriás görbék lefutása tekintetében a patkány- és a sertésmérések egymástól kevéssé különböznek, azonban az emberi minták ezekhez képest ellentétes haladványúak, és ez utóbbi faji különbség még kifejezettebb a kutya-vörösvérsejteken. Mi a lehetséges oka ennek a nagy faji eltérésnek a membránstabilitási, nyírófeszültség-elongációs indexarányban?”***

A vörösvérsejt deformabilitás és így a mechanikus stabilitás vonatkozásában mutatókozó faji különbségek lehetséges okaként meg lehet említeni a vörösvérsejtek méretét, alakját és denzitását, a membrán viskoelasztikus tulajdonságait meghatározó tényezőket és a citoskeletális struktúra különbözőségeit.²

A 30. ábrán az alapmérések, valamint a centrifugálás után mért elongációs index – nyírófeszültség görbék látszanak, míg a 31. ábrán már a membrán stabilitási teszt eredményeit ábrázoltuk, azaz a mintákon alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és közvetlenül az után mért deformabilitást. Míg a centrifugálás után mért

deformabilitási adatok jelentősen nem különböztek a kiindulási állapottól, a membrán stabilitási teszt során már kimutathatóak voltak a változások. A centrifugálás hatására létrejöhetett olyan mértékű sejtkárosodás, ami ezzel a teszttel már kimutathatóvá vált. Mindez összefügghet az úgynevezett sublethalis mechanikus trauma kérdéskörével.⁸

A különböző ozmolaritású vérmintákon végzett membrán stabilitási teszt során tapasztaltuk azt, hogy a fiziológiástól alacsonyabb ozmolaritású minta deformabilitási értékei a mechanikus stressz után javultak, holott romlást vártunk volna. Feltételezésünk szerint ennek oka kettős lehet. Egyrészt a fiziológiásnál jóval alacsonyabb ozmolaritású tartományban a duzzadó vörösvérsejtek alakja és így a felület-térfogat aránya jelentősen változik, így a sejt a mechanikus stressz során a discocytától eltérő geometriájú testként torzul, elongálódik. A másik magyarázat lehet, hogy egyfajta „pozitív szelekció” eredményét látjuk a mérés során, hiszen a duzzadt sejteket ért mechanikus trauma feltételezhetően nagyobb mértékben hoz létre fragmentálódást és haemolysist az öregebb, rigidebb vörösvérsejteken, majd az ismételt deformabilitás mérés során már nagyobb számarányban lehetnek jelen a „túlélő” rugalmasabb, jobb deformabilitási paraméterekkel bíró sejtek. Így összességében magasabb elongációs index értékeket kaphatunk.

3. *„Vörösvérsejt-szűrésnél a sejtek pórustranzitideje úgy számítható, hogy a kezdeti relatív filtrációs ráta reciprokát eggyel csökkentjük, majd osztjuk a haematocritértékkal, végül ezt eggyel növeljük. A 33. ábra B részén mindhárom állatfaj kezdeti relatív filtrációs rátája szinte teljesen egyező értékeket és trendet mutat a haematocrit függvényében. Ennek ellenére az ábra A részén a patkány- és az egércsoport vörösvérsejtjeinek pórustranzitideje ellentétes haematocrit-haladványú a kutyacsoportéhoz képest, és az 1%-os haematocritnál az érték 3-szorosan különbözik a másik 2 állatcsoportéhoz képest. E jelenség egyik oka az, hogy a számolási módszer a kezdeti relatív filtrációs ráta egészen kicsi változását jelentősen felnagyítja a sejtranzitidő. Ugyanis a kezdeti relatív filtrációs ráta mindössze 9%-os eltérése (pl. 0,90 helyett 0,98) 10-szeres sejtranzitidő-különbséget okoz. Mivel a kezdeti relatív filtrációs ráta lineáris regresszió eredménye, amelynél az egyenes meredeksége, vagyis a pórusdugulási tendencia jelentősebb tényező lehet, mint maga a vörösvérsejt-filtrációs ráta egyedi értékei, ezért a sejtranzitidőben – inherit módon – jelentős hatással benne rejlik a pórusblokkolódás hatása is. Miként kommentálja a jelölt ezt a véleményt?”*

Teljes mértékben egyetértve Opponens Úr véleményével, a filtrometriás adatokban mutatkozó különbségek legfőbb okaként mi is a képlet torzító hatását emeltük ki, amelyre vonatkozóan egy külön tanulmány is készült. Minél alacsonyabb az IRFR és a minta haematocritja, annál nagyobb mértékű ez a „torzító” hatás. Azonban a fajok között mutatkozó filtrometriás mérések során kimutatott különbségek hátterében más

faktorok is szerepet játszhatnak, hiszen a képlet alapján felállítható IRFR-RCTT-haematocrit görbékre (60. oldal, 34. ábra) nem minden esetben illeszthetők pontosan a valóságban kapott eredmények. A filtrometriás mérések eredményeit jelentősen befolyásolhatják a mintában még jelenlévő fehérvérsejtek és thrombocyta aggregátumok, amelyek a pórusokat részlegesen vagy teljesen elzárhatják, ezáltal lassítva vagy megakadályozva a vörösvérsejtek keresztülhaladását a filteren. Az alkalmazott mintaelőkészítési protokoll során technikailag sajnos nem érhető el a teljes fehérvérsejt- vagy thrombocyta-mentesség, mindemellett a szuszpenzió haematocritjának beállításánál is lehetnek mérés technikai bizonytalanságok. Ezen kívül a különbségek kialakulásának hátterében a vörösvérsejtek alaki változásai is szerepet játszhatnak, hiszen igen alacsony haematocritú (1-5%) puffer - vérsejt szuszpenziót készítettünk.⁹⁻¹³

Irodalomjegyzék:

1. Popel AS, Johnson PC, Kameneva MV, Wild MA. Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species. *J Appl Physiol* 1994;77:1790-1794.
2. Windberger U, Baskurt OK. Comparative hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 267-285.
3. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ. Comparative aspects of red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, eds. *Red Blood Cell Aggregation*, CRC Press, Boca Raton, 2012. pp. 269-288.
4. Udden MM. In vitro sub-hemolytic effects of butoxyacetic acid on human and rat erythrocytes. *Toxicol Sci* 2002;69:258-264.
5. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology* 2008;45:629-638.
6. Castellini M, Elsner R, Baskurt OK, Wenby RB, Meiselman HJ. Blood rheology of Weddell seals and bowhead whales. *Biorheology* 2006;43:57-69.
7. Castellini MA, Baskurt O, Castellini JM, Meiselman HJ. Blood rheology in marine mammals. *Front Physiol* 2010;1:146.
8. Kameneva MV, Antaki JF. Mechanical trauma to blood. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007. pp. 206-227.
9. Schmalzer EA, Skalak R, Usami S, Vayo M, Chien S. Influence of red cell concentration on filtration of blood cell suspension. *Biorheology* 1983;20:29-40.
10. Reinhart WH, Usami S, Schmalzer EA, Lee MM, Chien S. Evaluation of red blood cell filterability test: influences of pore size, hematocrit level, and flow rate. *J Lab Clin Med* 1984;104:501-516.
11. Dormandy J, Flute P, Mátrai A, Bogár L, Mikita J. The new St. George's blood filterometer. *Clin Hemorheol* 1985;5:975-983.
12. Mátrai Á, Reid H, Bogár L, Flute PT, Dormandy JA. Initial filtration rate and initial clogging in the Hemorheometre. *Biorheology* 1985;22:275-284.
13. Lisovskaya IL, Shurkhina ES, Nesterenko VM, Rozenberg JM, Ataullakhov FI. Determination of the content of nonfilterable cells in erythrocyte suspensions as a function of the medium osmolarity. *Biorheology* 1998;35:141-153.

Tisztelettel megköszönve a bírálatot és a kérdéseket, bízom a válaszaim elfogadásában.

Debrecen, 2017. június 7.

Dr. Németh Norbert