

Válasz
Prof. Dr. Szirmai Imre egyetemi tanár Úr
bírálatára

Tisztelt Professzor Úr!

Mindenekelőtt szeretném megköszönni, hogy elvállalta az opponensi teendőket és időt szánt a disszertációm értékelésére. Köszönöm a megtisztelő véleményét és a kérdéseit.

Az észrevételekre és a feltett kérdésekre, azok sorrendjében, az alábbiakban szeretnék válaszolni.

1. A történeti áttekintésnél a szűkebb haemorheologiai vonatkozásokra koncentráltam. Tekintettel arra, hogy a haemorheologia elválaszthatatlan a microcirculatiótól, kitérhettem volna annak szabályozására és így valóban említést érdemelt volna a hajszálerek regulációs mechanizmusának felfedezéséért Nobel-díjjal kitüntetett August Krogh is. Köszönöm szépen az észrevételt. A közeljövőben egy haemorheologiai témájú jegyzet elkészítését tervezem, amelyben bővebben szeretnék kitérni a történeti vonatkozásokra.
2. A fehérvérsejtek filtrációs tulajdonságait módszertani korlátok miatt sajnos nem vizsgálhattuk. Maximálisan egyetértve Opponens Úr véleményével, a rheologiai jelentőségük fontos a microcirculációban, különös tekintettel a gyulladásos folyamatokra. A fokozott adherenciájú aktivált fehérvérsejtek rigidebbek, így a mikrokeringés területén jelentős áramlási akadályt képezhetnek.¹⁻³ Az ischaemia-reperfüsióval foglalkozó közlemények diszkusszióiban néhány esetben kitérhettem erre a kérdésre is. A kísérletek során haematologiai automatával nyertük a mennyiségi és minőségi adatokat, kenetkészítést rutinszerűen nem végeztünk. A fehérvérsejtek és thrombocyták rheologiai vizsgálata az utóbbi néhány évben az újabb mérőmódszereknek köszönhetően ismét előtérbe került,^{4,5} ezért jövőbeni kísérletek tervezésénél érdemes ezzel foglalkozni.
3. A Fåhræus-Lindqvist effektus teljes körű magyarázata a mai napig nem ismert. A legfontosabb tényező, amely kialakulásához vezet, a vörösvérsejtek axiális áramlása révén az ér keresztmetszete mentén létrejövő dinamikus haematocrit-redukció, azaz maga a Fåhræus-effektus. Az axiális áramlás kifejezetté válik, ha fokozott a vörösvérsejt aggregatio. A folyamat az érbelhártya közeli sejtszegény plazma zóna

kiszélesedéséhez vezet. A másik fontos tényező a vörösvérsejtek deformabilitása és az áramlás irányába való rendeződésük a nyíró- és nyomóerők hatására, annak kedvező alakzatban („papucs”, „csepp”, „ejtőernyő” alakzatok). Mindemellett a plazma viszkozitás és a vascularis geometria is hozzájárul az áramlási profil kialakításához. A vörösvérsejtek mellett a fehérvérsejtek és a thrombocyták is mutatnak szuszpenzióban való áramlásuk során Fåhræus-effektust, bár mértékében jóval kisebbet.⁶

4. A fokozott vörösvérsejt aggregatio *in vivo* hatása összetett. A faktorok között szerepel az a megállapítás is, hogy a fokozott aggregatio hatására kialakuló, akár artériás oldalon is megjelenő aggregatumok „szétmorzsolásához” nagyobb energiára, nagyobb nyíróerőre van szükség. Emellett következmény a tömeges áramlási szakaszban a particulum-méret növekedése, amely a vérviszkozitás emelkedéséhez vezet. Kísérletes adatok igazolják, hogy fokozott aggregatio hatására növekedhet a vascularis tónus, ami szintén az áramlási ellenállás növekedéséhez vezet. Ugyanakkor az arteriolákban a kifejezettebb axiális áramlás révén csökkenő sűrűlódási ellenállás és a csökkenő szöveti haematocrit önmagában az áramlási ellenállás növekedése ellen hatna. Azonban e tényezők összességében az áramlási ellenállás növekedéséhez vezetnek.⁷
5. A glutáraldehides kezelést az *in vitro* módszertani kísérletek egyik fázisában alkalmaztuk annak vizsgálatára, hogy a rigiddé tett vörösvérsejtek csökkent deformabilitását melyik módszer, melyik paramétere mutatja ki a legnagyobb érzékenységgel. A glutáraldehid főként a membránproteinek keresztkötése révén rigidifikálja a sejteket, de más szubsztrátoknak is jelentősége lehet. Természetesen ez nem reprezentálja a klinikailag releváns deformabilitás-csökkenéshez vezető mechanizmusokat, amelyeknél a membrán viszko-elasztikus tulajdonságainak változása mellett a sejtfelszín-térfogat arány és a cytoplasma viszkozitás eltérései is szerepet játszanak.
6. A micro-rheológiai paraméterek, mint a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio tekintetében a fajok között mutatkozó különbségek teljes körű magyarázata még nem ismert. E különbségekben a vörösvérsejtek alakja, mérete és száma, a fibrinogén-vörösvérsejt interakciók, a sejtfelszíni glycocalyx összetétele, az érrendszer struktúrája és a haemodinamikai paraméterek is szerepet játszanak. Adatok utalnak arra is, hogy a az egyes állatfajok életmódja (atletikus, szedentarius), valamint táplálkozás módja (növényevő, húsevő, mindenevő) is befolyásolja a micro-rheológiai paramétereket.⁸

7. A membrán stabilitási teszt során a fizioiogiástól alacsonyabb ozmolaritású minta deformabilitási értékei a mechanikus stressz után javultak. Ezt részben magyarázhatja az is, hogy a duzzadt vörösvérsejtek felület-térfogat aránya jelentősen változik, így a mechanikus stressz során a discocytától eltérő geometriájú testként elongálódnak. A másik magyarázatként az szolgálhat, hogy egyfajta „pozitív szelekció” mutatkozik, hiszen feltételezhetően a duzzadt sejteket ért mechanikus trauma nagyobb arányban hozhat létre haemolysist az öregebb, rigidebb vörösvérsejtek között. A teszt protokollja szerint a mechanikus stressz után megismételt deformabilitás mérés során a relatíve nagyobb arányban jelenlévő „túlélő”, fiatalabb sejtpopuláció jobb elongációs index értékeket mutat. A sejtek morfológiáját és a haemolysis mértékét a módszer sajátosságaiból fakadó technikai határok miatt nem vizsgálhattuk, ezért ezek egyenlőre még feltételezések.
8. Kísérletünkben a gonadectomy hatására létrejövő micro-rheologiai különbségek egy állapotot tükröznek, három hónappal a műtét után. A végtagi ischaemia-reperfúziót vizsgáló kísérletben az volt a fő kérdés, hogy vajon mennyiben jelenthet „rizikófaktort” a gonadectomyizált állapot a micro-rheologiai változások tekintetében, s vajon lehet-e additív jellegű a hatás. A kérdés klinikai relevanciája a különböző okok miatt (tumor, trauma) miatt végzett sebészeti ovariectomy vagy orchidectomy vonatkozásában lehet.
9. A cerebrális hypoperfúsió hatását fiatal sertéseken vizsgálhattuk. Az indokok között laborállat-tudományi és technikai szempontok említhetőek. A sertés agy funkcionális anatómiai sajátosságai mellett e nagyállat modell állatkíméleti szempontból is kiemelhető előnye, hogy jóval több paraméter vizsgálható, szemben a kisállat modellekkel. A 29-35 kg testtömegű állatokon végzett beavatkozások lehetőséget adtak a klinikumban is alkalmazott multimodális mérőmódszerek alkalmazására. A kapott rheologiai eredmények háttérében nemcsak a laktát koncentráció változása állhat, de a kísérletben vizsgált paraméterek között a deformabilitás változás mértékével legmarkánsabban ez korrelált. Mindemellett az oxigenizációnak is szerepe lehet a micro-rheologiai paraméterek változásaiban.⁹ Az állatok alap artériás középnyomása $96 \pm 2,2$ Hgmm volt. A regionális agyi véráramlás alapértékeként $32,4 \pm 3,44$ ml/100g/min-t lehetett mérni. A hyperventilláció hatására ($p\text{aCO}_2 = 20$ Hgmm) $18,8 \pm 4,21$, a hypertenziós szakaszban $33,9 \pm 2,75$, míg a hypotenziós szakaszban $5,5 \pm 4,9$ ml/100g/min volt az érték. Így feltételezhető, hogy a perfúsió

csökkenés elérhette az ischaemia határát. Agyi elektromos tevékenység regisztrálásáról sajnos nincsenek adataink.

10. Az end-to-side arterio-venosus shunt-ök patkányok a. saphenája és v. saphena medialis között készültek. A fistulák érését biztosító időszakot követően a 8-12. posztoperatív héten végeztük a vizsgálatokat. A shunt-ök nyitva voltak, két esetben ($2/16 = 12,5\%$) fixált thrombus igazolt a szövetben. A kontroll és a shunt csoport között nem volt szignifikáns különbség az artériás középnyomás és a szívfrekvencia tekintetében. Más modellekkel szemben, mint például az egyik oldali a. carotis communis és v. jugularis externa, vagy az a. és v. femoralis között létrehozott shunt-ök esetén jelentős haemodinamikai hatások várhatóak.¹⁰ Modellünkben a keringés jelentős megterhelésére utaló jeleket nem találtunk.
11. Az allopurinol és metabolitja az oxipurinol a xantin-oxidáz enzim gátlásával csökkenti a szuperoxid-anion termelődést. A szuperoxid-anion agresszív szabadgyök láncreakciót indít el, amely révén a vörösvérsejtek több komponense károsodik: methaemoglobin és Heinz-test képződés következik be, lipidperoxidáció révén növekszik a membrán viszkozitás, a membránproteinek és strukturális fehérjék szulfhidril-csoportjai között létrejövő keresztkötések funkcionális és morfológiai változásokat idéznek elő. Összességében csökken a vörösvérsejtek deformabilitása. A vörösvérsejtek igen érzékenyek az oxidatív stressz okozta hatásokra jelentős vastartalmuk révén (Fenton-reakció), és sejtmag hiányában a károsodott sejtalkotóelemek javítása is elmarad.

Irodalomjegyzék:

1. Chien S, Sung KL, Schmid-Schönbein GW, Skalak R, Schmalzer EA, Usami S. Rheology of leukocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1987;516:333-347.
2. Ernst E, Matrai A, Paulsen F. Leukocyte rheology in recent stroke. *Stroke* 1987;18:59-62.
3. Tran-Son-Tay R, Nash GB. Mechanical properties of leukocytes and their effect on the circulation. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007. pp. 137-152.
4. Watts T, Barigou M, Nash GB. Effects of vessel size, cell sedimentation and haematocrit on the adhesion of leukocytes and platelets from flowing blood. *Biorheology.* 2015;52:391-404.
5. Watts T, Barigou M, Nash GB. Comparative rheology of the adhesion of platelets and leukocytes from flowing blood: why are platelets so small? *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;304:H1483-H1494.
6. Cokelet GR, Meiselman HJ. Basic aspects of hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 21-33.
7. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology* 2008;45:629-638.
8. 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.
9. Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;41:179-188.
10. Ozek C, Zhang F, Lineaweaver WC, Chin BT, Eiman T, Newlin L, Buncke HJ. A new heart failure model in rat by an end-to-side femoral vessel anastomosis. *Cardiovasc Res* 1998;37:236-238.

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

Debrecen, 2017. június 7.

Dr. Németh Norbert