

Válasz Prof. Dr. Koller Ákos egyetemi tanárnak, az MTA doktorának
„Hemoreológiai és angiológiai vizsgálatok verőérbetegségekből” című
MTA doktori értekezéséről alkotott opponensi véleményére

Tisztelt Professor Úr!

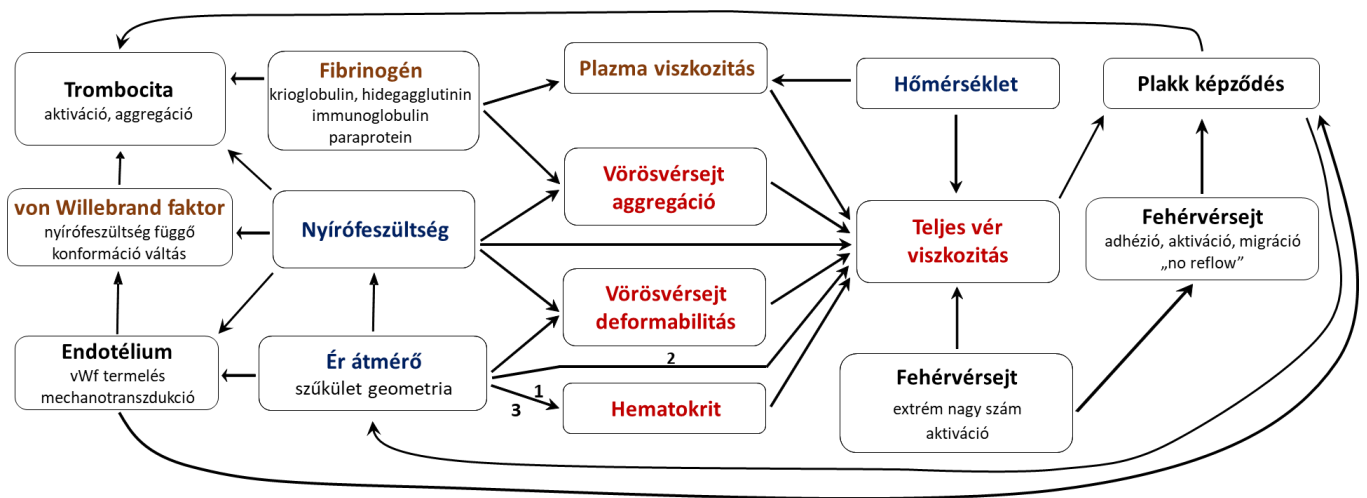
Köszönöm MTA doktori pályázatomban opponensi véleményezését, alapos munkáját, bíráló megjegyzéseit és elismerő szavait. Kérdéseire a következő válaszokat adom.

Értekezésemben klinikusi megközelítésből vizsgáltam a vérkeringés artériás részének egyes jelenségeit és betegségeit. A mások által már sokat vizsgált vulnérabilis plakk analógiájára használtam a vulnérabilis vér és a vulnérabilis végtag kifejezéseket, melyekkel keretbe kívántam foglalni munkámat és középpontba állítani ezt a két ritkábban tárgyalt entitást. A vizsgálatokat és az eredményeket időrendben ismerttettem.

Hemoreológia és a vénás rendszer:

A hemoreológiai tényezőknek a keringési rendszer vénás oldalán is fontos szerepe van. Az alacsony sebességű áramlás, a kis nyíróerők a vörösvérsejtek aggregációjának kedveznek, a vér viszkozitás lokális növekedését eredményezik. Az ismert, kiváló hazai vénás állatkísérletes kutatások mellől nagyrészt hiányzik a vénás rendszer humán klinikai kutatása. Állatkísérletes modellben az emberi hemoreológiai viszonyokról csak korlátozottan lehet információt szerezni (pl. a vörösvérsejtek eltérő struktúrája, aggregációs tulajdonságai miatt). A vénás betegségek kórházi/klinikai ellátása az artériás betegségekéhez képest sokkal kevésbé központosított (gondolok itt a vénás tromboembóliás betegek legkülönbözőbb osztályokon történő elhelyezésére és kezelésére, továbbá a krónikus vénás betegségek nagyon esetleges ellátására, valójában jelentős ellátatlanságára). A strukturális képalkotó vizsgálatok sem elégségesek (pl. ultrahang krónikus vénás betegségben, CT, MR venográfia általában a vénás kórképekben), műszeres funkcionális vénás vizsgálatok pedig nem érhetőek el a klinikumban (pl. alsó végtag vénás ejekciós frakció, ejekciós volumen, vénás visszatelődési idő), pedig az ún. „vénás szív” (az alsó végtagi izomzat és vénás rendszer) működése a vérkeringés egyik hajtómotorja. A vénák klinikai kutatásának fejlesztése terveim között szerepel.

Hemoreológiai tényezők összefüggései:



¹Fåhræus-effektus, ²Fåhræus-Lindqvist-effektus, ³Fázissszeparáció (bifurkáció+szűkület)

Az ábra a hemoreológiai faktorok és egyes fizikai tényezők összefüggéseit vázolja fel.

Vazoaktív szerekre vonatkozó kérdések:

A vazoaktívnak nevezett parenterális szerek több évtizede forgalomban vannak. Nagy nemzetközi, multicentrikus, randomizált klinikai vizsgálatok nem készültek (csak kisebb vizsgálatok), major kardiovaszkuláris és végtagi adverz eseményekre vonatkozóan nem rendelkeznek kedvező bizonyítékkal, sőt tüneti hatásukat is megkérdőjelezték. Perifériás verőérbetegségek tüneti kezelésére a legfrissebb európai és amerikai irányelvek nem ajánlják ezeket a szereket, a European Society of Vascular Medicine legutóbbi irányelve a prosztanoidot megfontolhatóként (IIbB) említi revaszkularizációra alkalmatlan kritikus végtag iszkémia esetén. Vénás fekély kezelésében a szulodexid rendelkezik ajánlással, megfelelően tervezett és kivitelezett klinikai tanulmány artériás hatékonyságának feltárására célszerű volna.

A vazoaktív gyógyszer projekt rendelkezett a Regionális Kutatás Etikai Bizottság engedélyével, ez az értekezésből kimaradt, az engedély száma 5075.

„A karokon is Dopplerrel mérték a vérnyomást? Erre milyen evidencia van?”

Mind a négy végtagon a vérnyomást Doppler-készülékkel mértük a European Society of Cardiology irányelve és az American Heart Association ajánlása alapján (értekezés irodalomjegyzékében 19, 114).

„20-22 Celsius fokon voltak a betegek egy órán át fekvé? Ez nem túl hideg?”

A klinika ambuláns helyiségeinek szokásos hőmérsékletén végeztük a méréseket (az osztályos kórtermek hőmérséklete ennél magasabb). A termoneutrális zóna 26-33°C közé tehető nagy individuális különbséggel, szakirodalomban ennél alacsonyabb hőmérsékletet, 23°C fokot is találunk (Pallubinsky H et al, J Ther Biol. 2019;79:199-208). A páciensek bőr hőmérsékletét megmértük. Bár lábujj vérnyomásmérésnél a lézer Doppler fejegység lokális melegítésre képes, a mérést saját hőmérsékleten végeztük. Transzkután parciális szöveti oxigéntenzió mérésénél az elektróda standard módon 44°C-ra melegíti fel a mérés helyét.

„Elképzelhető, hogy az artériás/oxigenizált vér (...) rheologiai jellemzői mások, mint a vénás véré? Változnak-e a vér rheologiai tulajdonságai a keringés közben a különböző érszakaszokon?”

Első vizsgálatomban még Ph.D. hallgatóként koronarográfiára kerülő betegektől a vizsgálat alatt több helyről vettünk vérmintát: koszorúérből, sinus coronariusból, perifériás vénából. Ezen artériás és vénás vérminták vizsgált hemoreológiai paramétereiben nem volt különbség. Forconi et al. (J Cardiovasc Surg. 1979;20:379-384) perifériás verőérbetegek femorális vénájából vett vérmintákban magasabb viszkozitást talált, mint a femorális artériából vett mintákban, egészségeseknél nem volt különbség. Mokken et al. (Ann Haematol. 1996;73:135-137) magasabb hematokritot, vörösvérsejt aggregációt, plazma és teljes vér viszkozitást írt le vénás vérben artériás vérmintához képest.

A keringésben a nyíróerők változnak az artériákban, arteriolákban, kapillárisokban és a vénákban, ezért a vörösvérsejt aggregáció, elongáció és teljes vér viszkozitás különböző az érpálya egyes szakaszaiban, az érátmérő változása befolyásolja a lokális hematokritot és vérviszkozitást (Fåhræus-hatás, Fåhræus-Lindqvist-hatás), bifurkáció egyik ágának szűkülete esetén pedig a fázisszeperáció hatása érvényesül. Az érpályából kémcsőbe levett vérmintáknál ezek a befolyásoló tényezők eltűnnek.

„A vWf mennyiségét 4 csoportban hasonlították össze 3 db t-próbával. Ez úgy tűnik, hogy helytelen, ANOVA lenne a helyesebb megoldás.”

A von Willebrand faktor vizsgálata 2000-2002-ben készült, akkoriban ezt a statisztikai módszert tartalmazó program nem állt rendelkezésünkre. Biostatistikával foglalkozó munkatársaim véleménye szerint ennél az alacsony elemszámnál nincs érdemi különbség a két statisztikai módszer eredménye között; ANOVA használata helyesebb lett volna.

„A vWf és a vulnerábilis végtag projekteknél az adatok diszperziója SEM-mel lett feltüntetve, a többi projektnél SD-vel...”

Az eredményeket az elfogadott közleményeknek megfelelően tüntettem el. Az elemszámok ismeretében SD meghatározható, a statisztikai próbák eredménye ettől az ábrázolástól független. A konfidencia intervallum feltüntetésére vonatkozó javaslatát köszönöm, további munkáimban alkalmazni fogom.

„A vazóaktív gyógyszerek projektben helyesen vizsgálták a varianciák egyenlőségét f-teszt segítségével. Ez a variancia-egyezés vizsgálat elmaradt a többi projekt esetében Miért?”

Az f-teszt megemlítése az értekezés statisztikáról szóló alfejezetében a többi vizsgálatnál kimaradt a felsorolásból. Az f-teszt ANOVA-nál az elemzés része, t-próbánál az f-tesztet külön elvégeztük.

„A mintaadatok normalitásának vizsgálatára mindenhol Kolmogorov-Smirnov tesztet használta, holott manapság a Shapiro-Wilk teszt, illetve az Anderson-Darling teszt alkalmazását javasolják.”

A dolgozatban szereplő elemszámokhoz statisztikában jártas szakemberünk a Kolmogorov-Smirnov tesztet tartotta megfelelőbbnek.

„A sztatin terápia hatására statisztikailag csökkent a vWf mennyisége. Mi lehet ennek a jelenségnek a mechanizmusa? Milyen szempontból lehet fontos ez a tény klinikai aspektusból? A statin-indukálta vWf csökkenés mértéke kisebb, mint a kontroll alanyok és a krónikus betegek közötti különbség.”

Az artériás betegségek egyik első elváltozása az endotélium funkciózavarának kialakulása. A vWf magasabb szintje az endotélium diszfunkció markere lehet. Sztatin kezelés az endotélium funkciózavarát csökkenti, például részben helyreállítja a károsodott endotélium dependens vazodilatációt. Bár a sztatin terápia kedvező hatásai elsősorban hosszú távon érvényesülnek, akut artériás kórképekben nagy dózisu sztatin már rövid távon is kedvező klinikai hatású; kísérletes körülmények között pedig kimutatták 4-12 hetes lipidcsökkentő kezelés endotélium funkciót javító hatását (Stroes ES et al., Lancet 1995;346:467-471).

Vizsgálatunkban a vWf 11%-os csökkenését mutattuk ki rövid idő, egy hónap alatt. Krónikus betegségben szerintem a kontroll csoporthoz hasonló érték eléréséhez hosszabb időre vagy nagyobb sztatin dózisa lett volna szükség, melyet közvetlenül nem vizsgáltunk. A vérből kimutatható laboratóriumi paraméterek változása néhány órától akár több hónapig terjed (pl.

troponin vs. vörösvérsejt-süllyedés). A vWf klinikai relevanciáját nagyobb vizsgálatban érdemes volna megvizsgálni.

„Amennyiben a táblázatban közölt elongációs index értékeket 2 tizedesjegyre kerekítjük, úgy azonos számokat kapunk a Raynaud és a kontroll csoportok sorai között. Mi a EI mérő eszköz (LORCA) mérési pontossága? A 3. tizedesjegy pontosságának van értelme?”

Az elongációs index meghatározásánál a LORCA készülék 50-szer illeszt ellipszist a lézerdiffrakciós mintázatra, melyből átlagot számol. Az EI értéket tizedestört formájában kapjuk meg, ezért jelenik meg az elongációs index átlaga három tizedesjeggyel. Az EI mérés CV értéke LORCA készülék esetében 5% alatt van.

„A szignifikánsnak mondott számértékek nagyon közelinek tűnnek. Klinikailag van különbség a 4,64 mPas-os és a 4,50 mPas-os teljes vér viszkozitás (TVV) között?”

A teljes vér viszkozitás 37°C-on 90 s⁻¹-nál klinikánkon megadott felső „cut-off” értéke 4,50 mPas, tehát az ezt meghaladó érték klinikailag magasnak számít. Ha e két érték közötti 3,1% különbséget más paraméterre vetítjük, akkor például pH esetében 7,40-hez (normálishoz) képest 7,18-at (acidózist) kapunk, hőmérséklet esetében 37°C helyett 38,1°C-ot (azaz lázat). A fenti teljes vér viszkozitás értékeket klinikailag releváns, kismértékű különbségként értékelem.

„Minek köszönhető, hogy a 0,95 és 0,53 Pa-os nyírási feszültségeknél az Alprostadil szignifikáns elongációs-index növekedést okoz, míg a többi adat/szer csökkenést vált ki. Mi ennek a jelentősége?”

Egy régi közlemény szerint a proszttaglandin E₁ (gyógyszerként alprostadil) növeli a vörösvérsejt deformabilitást a sejt volumen csökkentése révén, míg a proszttaglandin E₂ ellentétes hatású (Allen JE, Valeri R. Arch Intern Med. 1974;133:86-96). Egy másik közleményben a PGE₁ koncentráció függő módon (harang alakú görbe) javította vörösvérsejt szuszpenzió filterabilitását, míg a PGE₂-nek ellentétes hatása volt; a hatást a vörösvérsejt adenilát-cikláz aktivitás befolyásolásának és a cAMP szint megváltozásának tulajdonították (Oonishi T et al. Am J Physiol. 1997;273:C1828-1834). Vizsgálatunkban az alprostadillal észlelt változás a más módszerrel kapott vizsgálati eredményekkel összhangban van, további vizsgálat felmerül a hatás pontosabb megítélésére betegektől vett vérmintákban.

„Az életkort 2 tizedesjegyre feltüntetni?”

Statisztikusi megközelítés szerint minden kerekítés adatvesztés, a két tizedesjegyre vonatkozó kérdést annak idején én is feltettem, majd elfogadtam e rövid érvelést.

„Az endotélium a keringő vér és az érfal középső muskuláris rétege, kapillárisokban az adventicia közötti monocelluláris réteg.” Ez a mondat nehezen értelmezhető, és legalább egy irodalmi összefoglalást kellett volna idézni.

A hivatkozás a bekezdés végén a 87. oldalon található (148), célszerűbb lett volna ezen az oldalon is feltüntetni, továbbá: Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. Br J Anaesth 2004;93:105-113.

„A glikokálix az ér ellenállást növeli:” nem világos miért, különösen in vivo.

Az endotélium felszínét borító glikokálix makromolekulákból álló, viszonylag vastag réteg (100 nm), aminek számos élettani funkciója van molekuláris összetétele és elektromos töltöttsége révén, többek között szerepet játszik a nyíróerők mechanotranszdukciójának közvetítésében a sejtfal felé. Csökkenti az érlumen funkcionális átmérőjét a mikrocirkuláció szintjén, ahol relatív vastagsága a legnagyobb: egy kapilláris ér vaszkuláris ellenállása nagyobb, mint az ugyanolyan átmérőjű üveglumen (148).

Vulnerábilis vér és vulnerábilis végtag vizsgálatának összefoglalása:

Vulnerábilis vér vizsgálata (PAD, Raynaud, diabétesz)

Plazma komponensek

- fibrinogén
- von Willebrand faktor
- krioglobulin
- hidegagglutinin
- plazma viszkozitás

Sejtes komponensek

- vörösvérsejt aggregáció (AI, $t_{1/2}$, γ)
- vörösvérsejt deformabilitás (EI, EImax, $SS_{1/2}$)
- teljes vér viszkozitás

Vulnerábilis végtag vizsgálata

- tcpO₂ és TBI központú, multimodális funkcionális vizsgálat diabéteszben
- nyugalmi és járásteszt utáni multimodális (BKI, TBI, tcpO₂) műszeres vizsgálat súlyos végtag iszkémia felderítésére
- járásteszt utáni, TBI és tcpO₂ központú műszeres vizsgálat a funkcionális állapot pontos megítélésére
- lábujj vérnyomás, TBI és tcpO₂ mérés határérték BKI esetén
- magas, igen magas kockázatú betegek szűrése
- rosszabbodó klaudikáció kivizsgálása
- nyugalmi vagy járás közben kialakuló végtagfájdalom differenciáldiagnosztikája
- végtag fekély hátterének differenciáldiagnosztikája
- szeptikus végtag iszkémiás hátterének vizsgálata
- kritikus végtag iszkémiás beteg monitorozása
- revaszkularizáció hatásának lemérése kritikus végtag iszkémiában
- terápia hatékonyságának lemérése

Köszönöm ismét Professzor Úrnak pályázatom alapos átnézését, bírálatát, hasznos tanácsait, s hogy értekezésemet igényesnek, értékesnek és nyilvános vitára bocsájtásra alkalmasnak tartja.

Pécs, 2022. október 14.

Tisztelettel



Dr. Késmárky Gábor