

Opponensi vélemény dr. Kalabay László „A humán fetuin-A vizsgálatának hasznosíthatósága a klinikai gyakorlatban” c. MTA Doktori pályázatáról

A jelölt nagy fába vágta a fejszéjét: egy olyan molekula klinikai használhatóságának vizsgálatába kezdett, melyet emberben immár 60 évvel ezelőtt leírtak, de élettani szerepe mind a mai napig nem tisztázott minden részletében. Olyan molekuláról van szó, mely a törzsfejlődés során jelentős konzervativizmust mutat, melyből arra lehet következtetni, hogy alapvető biológiai szerepe lehet, - bár hiánya az étellel nem összeegyeztethetetlen. Az értekezés témaválasztása mégis érdekes és időszerű, mert az általa vizsgált betegcsoportok közül valóban van klinikai jelentősége a fetuin-A (korábbi nevén α 2HS-glikoprotein) meghatározásnak, így elsősorban a májcirrhosisban és a terhességi cukorbetegségben. Az érlelmeszesedés kialakulását sem magyarázzák meg minden esetben a klasszikus kockázati tényezők ezért fontos az újabbak azonosítása.

A dolgozatban leírt megfigyelések és azok értékelése vizsgálata mellett a szerző nem tud elszakadni a molekula biológiai szerepének interpretálásától. Ez a kettősség, azaz a fetuin-A biológiai szerepének és klinikai hasznosságának egyidejű keresése az értekezés egészén érvényesül és csak a végén, a klinikai hasznosságot röviden összefoglaló, 13. fejezetben „oldódik fel”.

Az értekezés 223 oldal terjedelmű. A 4 oldalas tartalomjegyzéket a rövidítések jegyzéke követi, ugyanekkora terjedelemben. A bevezetés mindössze 14 oldalas, meglehetősen, talán túlságosan is tömény fejezet. Az egyes részvizsgálatok során alkalmazott módszereket a jelölt az eredményekkel és ezek diszkussziójával együtt ismerteti, 156 oldal terjedelemben. Mindezt megelőzően azonban egy 3 oldalas fejezetben írja le a leggyakrabban alkalmazott módszereket. Ezt nyilván a fölösleges ismétlések elkerüléséből tette, azonban az értekezés szokásos felépítése és egységessége szempontjából szerencsésebb lett volna a módszereket, az eredményeket és azok megbeszélését egymástól teljesen elkülönítve tárgyalni. A következő 4 oldalban a fetuin-A meghatározások nyitott kérdéseivel és a gyakorlati jelentőségével kapcsolatos megállapításait foglalja össze. A saját közlemények, a tudománymetriai adatok és a köszönetnyilvánítás után következik az 508 citátumot tartalmazó irodalomjegyzék. Jelölt nem törekedett kizárólag a magyaros vagy latinós írásmódra, de a dolgozat ortográfiája egységes és következetes. Az idézetek szabályosak. Az értekezésben vannak gépelési hibák, de ezek mértéke, értelemzavaró hatása elhanyagolható.

Az eredményeket számos helyen hosszú táblázatokban mutatja be, melyekben sok a nem szignifikáns különbség. A táblázatok könnyebb áttekinthetősége szempontjából szerencsésebb lett volna csak a szignifikáns különbséget mutató paramétereket jelölni.

Az értekezés 18 eredeti közleményen és két rövid közleményen és egy könyvfejezeten alapszik. Ebből a 21 publikációból 17-ben a jelölt első vagy utolsó szerző. A közlemények kettő kivételével mind 1,5 feletti impakt faktorral rendelkeznek.

Az eredményeket 11 fejezetben írja le. Ezek közül a bíráló az első három, az inzulinreceptor autofoszforylációjával kapcsolatos kísérleteket és a májbetegségekben, valamint a terhességben, egyes terhességi kórképekben tett megfigyeléseket tartja a legfontosabbaknak.

Az értekezés tartalmi részét érintő észrevételeim és kérdéseim:

1. A bevezetés részben célszerű lett volna egy összefoglaló ábra, vagy legalább egy táblázat arról, hogy a fetuin-A milyen jelátviteli utakon keresztül fejti ki a hatását, ugyanakkor a végén egy újabb, de még komplexebb összefoglaló ábra arról, hogy részben a jelölt tudományos vizsgálatai alapján is, melyek azok a legfontosabb tényezők, amelyek meghatározzák a fetuin-A aktuális képződését/vérszintjét és ugyanakkor mik a fetuin általi reguláció fontosabb komponensei a két legfontosabb hatás-tartományban és azokon túlmenően.
2. 2011-től már az elhízottságot, a patológiásan fontosabb visceralis zsírtöbbletet a BMI helyett helyesebb lett volna a hasi körfoggattal jellemezni. Az akkori dolgozatokat persze magas szakmai minőséget reprezentáló és nagyon is kritikus nemzetközi szaklapok fogadták be közlésre.
3. A jelölt miért pont a májbetegségeket és az egészséges, valamint kóros terhességet vizsgálta jóval részletesebben a diagnosztikus hasznosíthatóságok megítélése során?
4. Megtörtént-e a Wilson kóros betegeknek a 2001-es Lipcsei kritériumok szerinti klasszifikációja?
5. Wilson kóros (4.4.2. számú) táblázat: hiányolom az egészséges kontroll személyek és a májérzékenységgel nem rendelkező Wilson kóros betegek adatainak feltüntetését.
6. Jelölt állítja, hogy a fetuin-A az inzulin receptor tirozin kináz gátlásával hozzájárul az inzulin rezisztencia kialakulásához. Mégis, mi a magyarázata annak, hogy a saját eredményei között és a szakirodalomban a fetuin-A koncentráció nem konzekvensen korrelál a HbA1c-vel?
7. Ha a jelölt prae-eclampszában a fetuin-A szint csökkenést gyulladásos állapot reakciójaként értelmezi, akkor ennek alátámasztására talán szerencsésebb lett volna az ezt az állapotot a vérnyomásnál talán jobban jellemző proteinuria/Fetuin-A összefüggésben is megvizsgálni? Miért hiányzik a proteinuria a terhességi kórállapotot bemutató táblázat parameterei közül?
8. Vizsgálták-e a szérum fetuin-A szintet szülés után is egészséges vagy gesztációs diabéteszes anyákban?
9. Az egészséges várandósokon és a vizsgált terhespatológiai kórképekben kapott eredmények alapján hogyan határozható meg a fetuin-A élettani szerepe a várandósság alatt?
10. A PPAR α és a PPAR γ 2 polimorfizmusok vizsgálata során a minor variánsok előfordulása esetén kedvezőbb metabolikus paramétereket talált. Az összefüggést klinikai megfigyelésekkel támasztja alá. Mi lehet a molekuláris magyarázat?
11. Nem eretnek gondolat 2020-ban azt állítani, hogy a radiális immundiffúzió jobb a fetuin-A koncentráció meghatározására, mint az ELISA?

12. Mi a magyarázata annak, hogy a szívinfarktust átvészelt betegek fetuin-A szintje magasabb az egészséges kontrollokhoz képest? Valóban az infarktus utáni állapottal hozható összefüggésbe, vagy inkább a nagyobb BMI számlájára írható? Mivel zsírsavak hatására zsírszövet is képes fetuin-A-t termelni, a kérdés most könnyebben megválaszolható lenne, ha 2011-ben a hasi viscerális zsírtömeget jobban jelző hasi körfogatot mértek volna a BMI helyett. Az infarktus utáni (fél-egy évvel későbbi!) állapotban adódik még erre a különbségre egy kiegészítő értelmezés is, de ez már a következő kérdéshez kapcsolódik.

13. Hogyan értelmezhető a fetuin-A vérszintjének változása az érlemeszesedés során: először emelkedik, aztán csökken? Valóban egyértelműen interpretálható a postMI állapotú, illetve a már szignifikáns alsó végtagú verőérszűkületben szenvedő, de feltehetően mindkét csoportban már szisztémás arterio-atherosclerosisban szenvedő, átlag 60 év körüli és alig eltérő BMI értékű betegekben talált alapvető fetuin-A szint eltérés (a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb, illetve kisebb vérszint) a a jelölt által hivatkozott, korábban más szerző által megalkotott elmélettel, vagyis a fetuin-A időfüggő változásával (nö/csökken) a vascularis károsodás, az atherosclerotikus kalcifikáció progressziója során? Mennyire gyengítheti ezt az elegáns gondolati párhuzamot az a tény, hogy a post-MI/fetuin-A tudományos vizsgálatban a koszorúerek többségének nyilvánvaló kalcifikálódott állapotán túlmenően nem történtek UH, vagy más módszerű mérések az aorta és nagyerek atherosclerotikus kalcifikációjának megítélésére, ellentétben a PAD/fetuin-A vizsgálatokkal? Amennyiben viszont így ugyancsak hipotetikusán a két betegcsoport érállapotával az igen nagy fetuin-A szint különbséget nem tudjuk teljes értékűen, legfeljebb csak részben magyarázni, jelent-e kiegészítő, vagy helyettesítő értelmezési lehetőséget az, hogy különösen újabb dolgozatok által hangsúlyozva (Rudlof et al, 2021), a multifunkciós fetuin-A egyben egy fejlődéstanilag konzerválódott „HIF target gene”, azaz a „hypoxia-inducible transcription factor” egyik célgénje a hipoxiás szövet védelmében, következésképpen a post-MI betegek esetében a balkamra szubklinikailag hipoxiás szövetei védelmében? A súlyos PAD betegekben viszont a nagyerek kalcifikációja olyan nagyfokú, hogy ez csak jelentősen lecsökkent fetuin -a mellett jöhet létre.

14. Ha a fetuin-A negatív akut fázis fehérje, hogyan értelmezhető az a jelenség hogy elhízásban, ahol a kórosan felszaporodott zsírszövet gyulladásos jelenségeket mutat, mégis emelkedik a szintje? Ez a jelölt értelmezése szerint azzal függ inkább össze, hogy a szabad zsírsavak hatására a zsírszövet is szignifikáns mértékben termel fetuin-A? Vagy inkább azzal az időtartamilag nem kielégítően pontosított ismeretünkkel, amit más vonatkozásban a jelölt is megemlít, hogy akut gyulladásban adott citokinek hatására ugyan a fetuin-A akut negatív fázis fehérjeként viselkedik, vérbeli koncentrációja csökken, de a nem nagy intenzitású krónikusan érvényesülő gyulladásos közegben a fetuin termelődés már nem csökken, sőt akár emelkedhet is?.

15. Már az 1980-as években leírták, hogy a fetuin-A (akkor még α 2-HS glycoproteinnek nevezett fehérje) vérszintje az életkorral csökken. Ez csak hormonokhoz hasonlóan következmény, vagy van esetleg szerepe a fetuinnek az öregedés regulációjában?

16. A jelölt végül két kórállapot esetében foglal állást a fetuin-A koncentráció vizsgálat diagnosztikus hasznosíthatósága mellett a klinikai gyakorlatban. Az általa említett markáns koncentráció eltérés kívánalma mellett még milyen beválogatási/kirostálási szempontok

határozták meg az MTA doktori értekezés címére adott végső választ? A kimaradtak közül a fetuin-A vonatkozásában a klinikumban még mely kórfolyamatokban/korállapotokban várható a (más diagnosztikus paramétereket felülmúló) gyakorlati hasznosíthatóság kritériumának való jövőbeli megfelelés?

Összefoglalva:

Az értekezés látszólag sokirányú, mindazonáltal az eredményeket kritikusan összefoglaló, koherens és igényes munka. A módszertani csapdákkal megtűzdelt témakörben a jelölt a kutatásainak hosszú időbeli íve során a Fetuin-A mérésekkel kapcsolatos különböző módszertani kihívások kritikai értékelésében, az optimális megoldások megtalálásában nemzetközileg is kiemelkedő tudatosságot és tudományos felkészültséget bizonyított.

A dolgozat mind tartalmát, mind formáját tekintve megfelel az MTA Doktori értekezésekkel szemben támasztott kritériumoknak. A felsorolt kritikák nem vonnak le a dolgozat értékéből. *Az értekezés nyilvános vitára történő kitűzését, elfogadását és a jelölt számára az MTA Doktora cím odaítélését javaslom.*

A disszertáció és tézisek behatárolt témakörében a jelölt új tudományos kutatási eredményeként fogadom el az alábbiakat.

1. A bakulovírus expressziós rendszerben termelt humán rekombináns fetuin-A foszforilált és dózisfüggő módon gátolja a patkány embrió fibroblasztokból (Rat-I sejtekből) és a patkány izomsejtekből származó inzulin receptor tirozin kináz aktivitását.
2. A szérum fetuin-A koncentráció májcirrhosisban csökken, annak etiológiájától függetlenül. Az alacsony szérum fetuin-A koncentráció az alkoholos májcirrhosis halálozásának jó prognosztikai mutatója. A csökkent fetuin-A koncentráció inkább a hepatocita diszfunkció és kevésbé az akut fázis reakció következménye. A fetuin-A szint Wilson kórban nem függ össze a H1069Q gén mutációjával.
3. Krónikus C-vírus hepatitises betegekben a pozitív és negatív akut fázis fehérjék koncentrációja paradox irányban változik, mely visszafordul az interferon- α és ribavirin kezelésre reszponder betegekben.
4. A gesztációs diabéteszes betegeknek a 3. trimeszterre szignifikánsan magasabb fetuin-A koncentrációjuk van, mint az egészséges várandósoknak. Az anyai szérum fetuin-A koncentráció pozitívan korrelál a BMI-vel GDM-ben, valamint az inzulinrezisztencia indirekt paramétereivel mind GDM-es betegekben, mind egészséges várandósokban. Az anyai szérum fetuin-A szint pozitívan korrelál az anyai TNF α és a leptin értékekkel mindkét várandós csoportban, valamint negatívan korrelál az újszülöttek antropológiai paramétereivel.
5. A szérum fetuin-A koncentráció szignifikánsan csökken praeclampsziában és HELLP szindrómában. Praeclampsziában az alacsony fetuin-A szint az anyai életkortól, a BMI-től és a gesztációs időtől is függetlenül jelzi a praeclampsziát.
6. A fetuin-A koncentráció fordítottan korrelál az érlelmeszesedés mértékét jelző kalcifikációs és a Bollinger score-al.

7. A fetuin-A rs4917 C/T és az rs4918 C/G allél polimorfizmus magyarországi eloszlása megfelel az európai populáció átlagának.
8. Egészséges, nem elhízott egyéneknél a fetuin-A rs4917, ill. az rs4918 polimorfizmus minor T alléljai (T., ill. G) alacsonyabb TNF α és magasabb leptin szinttel társulnak, mint a major allélok.
9. A PPAR α intron 7 G2467C polimorfizmus C allélja szignifikánsan magasabb szérumban fetuin-A szinttel jár együtt, mint a non-C allél. A PPAR γ 2 Pro12Ala polimorfizmus Pro allélja szintén magasabb fetuin-A szinttel társul, de ez a kapcsolat nem független a BMI-től és a szívinfarktus átvészelttségétől.

Budapest, 2021. március 30

dr. Székács Béla egyetemi tanár
az MTA Doktora