

**Hivatalos bíráló Dr. Antus Balázs: „A légúti gyulladás és az oxidatív stressz vizsgálata
tüdőbetegségekben” című MTA doktori értekezéséről**

Jelölt a fenti címen MTA doktori értekezést nyújtott be a Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsához.

Számos különböző légúti betegség patofiziológiai alapja a krónikus légúti gyulladás. A klinikai gyakorlatban ennek meglétére vagy mértékére általában vagy invazív módszerekkel, vagy indirekt módon lehet következtetni. Ezért rendkívül fontosnak tartom azokat a hazai és nemzetközi vizsgálatokat, amelyek nem invazív markereket keresve próbálják a gyulladást monitorozni. A biomarker többek között jelzi egy-egy betegség jelenlétét, ill. annak súlyossági fokát. Még általánosabban: indikátorként használható egy állapot jellemzésére. Lehet diagnosztikus, amely a betegség meglétére utal, prognosztikus, mely a betegség előrehaladását jelzi vagy prediktív annak igazolására, hogy bizonyos gyógyszer általában hogyan hat egy bizonyos betegségre. Az ideális biomarker meghatározása szerint az biztonságos, nem invazív és kivitelezése relatíve könnyű, a kezelésre illetve annak változtatására jól reagál, konstans, különböző etnikai hovatartozási, nemi különbségek nem befolyásolják és végül költséghatékony a betegség illetve a gyógyszer hatásának követésére. Jó biomarkerek felfedezése és használata elvezethet az egyénre szabott gyógyításig. A jelölt különböző légúti betegségekben ilyen biomarkereket kutatott az elmúlt években, és ezeket a kutatási eredményeket foglalta össze disszertációjában. A köpet, indukált köpet és a kilégzett levegő vizsgálata légúti kórképekben igen ígéretes módszerek, de az eredményeket befolyásoló módszertani és élettani hatások még nem teljes mértékben tisztázottak, számos kérdés még megválaszolatlan. Ez magyarázhatja azt, hogy például a kilégzett levegő kondenzátum (EBC) 1980-as Sidorenko és munkatársai által történt első közlése óta, annak ellenére, hogy több száz tudományos közlemény jelent meg a témával kapcsolatban, a legtöbb intézetben nem tudott a mindennapos klinikai rutin vizsgálatává válni. Az indukált köpet és a frakcionált kilégzett nitrogén monoxid (FENO) mérése már néhány gyógyintézetben a klinikai rutin részévé vált, de még ezekben az eljárásokban is számos nyitott kérdés foglalkoztatja az ezt kutatókat.

Ezek alapján témaválasztását rendkívül fontosnak és korszerűnek tartom. Jelölt irigylésre méltó helyzetben végezhetette a munkáját, hiszen munkatársai a terület nemzetközileg elismert szaktekintélyei. Jelölt tudományos munkásságának egyik elindítója az EBC vizsgálatának metodikájával kapcsolatos ATS/ERS állásfoglalás illetve ajánlás egyik megfogalmazója. Ez a

módszertani biztonság valamennyi tervezett vizsgálatra, a dolgozat egészére jellemző és az egyik igen fontos pozitívuma, amely igen hitelessé teszi jelölt eredményeit, megállapításait. Fontos leszögezni, hogy a dolgozat jelentős saját munkára épül, több értékes új megállapítást tartalmaz, és véleményem szerint mindenben megfelel a doktori értekezés tartalmi és formai követelményeinek. A bíráló egyébként is könnyű helyzetben volt, hiszen az értekezés olyan nívós és magas impakt faktorú nemzetközi tudományos folyóiratokban, jelölt által publikált közleményeken alapul, melyeknek alapos bírálata már a megjelenés előtt nyilván megtörtént. A jelölt irodalmi munkássága jelentős, tudományometriai adatokat a dolgozat tartalmazza. Bíráló számára külön örömet jelentett, hogy jelölt hazai folyóiratokban is rendszeresen publikálta eredményeit, így azok a csak magyar nyelvű folyóiratokat követő szakemberek számára is megismerhetők voltak. Ez, a véleményem szerint az impakt faktorok fontosságát kicsit túldimenzionált világban, számomra külön dicséretes. Eddig megjelent közleményeinek száma **74**, ebből idegen nyelven **44**. Összesített impakt faktora **118,2**, független idézetek száma **812**, Hirsch index **18**.

A disszertáció magyar nyelven íródott, irodalmi hivatkozások nélkül 151 oldal terjedelmű. Nyelvezete világos, érthető, elütési hiba lényegében nem található. Felépítése, tagolása az elvártnak és a szokásosnak megfelelő, az egyes fejezetek arányai is megfelelőek. A rövidítéseket egy-egy alkalommal nem a fogalmak első megjelenésekor alkalmazza a szerző, és ritkán előfordul, hogy bizonyos szavak kiírva és rövidítve, váltakozva szerepelnek, ami helyenként zavaró. A bevezetést követően a harmadik fejezetben valamennyi tárgyalt területtel kapcsolatban jelölt áttekinti a témával kapcsolatos legfontosabb irodalmi ismereteket, és élvezetes és hasznos támpontot nyújt a dolgozat későbbi részleteinek könnyebb megértéséhez. Az irodalmi összefoglalás, mely a jelölt igen széles körű tájékozottságát igazolja, a legújabb irodalmakat is magában foglalja, és igen pontos képet ad az egyes területek jelenlegi tudományos ismereteiről. A negyedik fejezetben a célkitűzések megfogalmazása egyértelmű és logikus. Az ötödik fejezet tartalmazza a betegek adatait, az alkalmazott módszereket és egyben az egyes vizsgálatok eredményeit. Ez a beosztás egyértelműen elfogadható, bár az eredmények bemutatás és azok megbeszélése általában külön fejezetben szokott megtörténni. A szerző dolgozatában a megbeszélések az egyes vizsgálatoknak megfelelő tagolásban a hatodik fejezetben található. Talán egyszerűbb lett volna és a bíráló feladatát is megkönnyítette volna, ha az egyes alfejezetekben az eredmények bemutatását az azonos alfejezethez tartozó megbeszélés követte volna. Az egyes vizsgálatokban az esetszámok elegendőek, a kérdések megválaszolására alkalmasak. Ezzel

kapcsolatban egyetlen kritikai megjegyzésem, hogy igen alacsony betegszámok esetén (pl. 5. táblázatban a tüdőtranszplantáltak alapbetegség szerinti megoszlása, n= 9) nem szükséges százalékos megosztást is megadni.

Kérdés: Volt-e átfedés az azonos betegségtípusba sorolt, például krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD), tüdődaganatban szenvedő, de a különböző vizsgálatok miatt esetleg külön csoportba sorolt betegek között?

A vizsgálati eljárások, statisztikai módszerek jól megtervezettek, korszerűek, a feltett kérdések megválaszolására egyértelműen alkalmasak. A vizsgálatok megtervezésekor minden zavaró körülményt igyekszik kiküszöbölni a szerző illetve igen értékes, hogy számos esetben kiegészítő vizsgálatokkal igazolja a metodikai eljárás megbízhatóságát.

Kérdés: A kilégtett levegő kondenzátum (EBC) vizsgálatainál figyelembe vette-e, hogy a légúti folyadékcspekpek hígulása befolyásolhatja a kapott pH értékeket?

Az 5.1. alfejezetben a FENO mérés szerepét vizsgálta tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményeinek a diagnosztikájában. Kimutatta, hogy tüdőtranszplantált betegek légúti infekciója során a FENO koncentráció emelkedik, azonban az alacsony szenzitivitás miatt infekció-szűrés céljából alkalmazása csak korlátozott mértékben lehetséges. Követései vizsgálatuk szerint a FENO mérés rutinszerű alkalmazása nem segít a tüdőtranszplantált betegek bronchitis obliterans szindrómájának (BOS) diagnosztikájában. Eredményei ellentétesek Silkoff megfigyeléseivel, aki nem talált különbséget az egészséges és infekcióban szenvedő tüdőtranszplantált betegek FENO értékei között. Némi pontatlanságot illetve ellentmondást találtam a szövegben szereplő adatok (65. oldal, a betegek egyszeres vagy többszörös légúti infekcióinak száma) illetve a 21 ábra FENO értékeinek bemutatása között. Irodalmi adatok szerint egészségesekben is nő a FENO érték infekció kapcsán, feltehetőleg a vírusok illetve baktériumok iNOS enzim aktiválása miatt.

Kérdés: vizsgálta-e, hogy a kontroll csoportban fordult-e elő a vizsgálat ideje alatt infekció és ez hogyan befolyásolta a kontroll esetek FENO értékeit?

Mi indokolta, hogy cytomegalovírus és aspergillus infekció kizáró körülményként szerepelt?

Az 5.2-4. alfejezetben FENO és köpet vizsgálatokat végzett krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) akut exacerbációjában, illetve EBC pH meghatározást nemcsak COPD, hanem asztma akut exacerbációjában is. Külön erősségnek tartom, hogy valamennyi EBC vizsgálat CO₂ standardizációval történt kizárva a CO₂ eredményeket befolyásoló hatását. Vizsgálata alapján a FENO mérést alkalmasnak találta a terápiára jól illetve kevésbé reagáló betegek elkülönítésére. Az eredmények tárgyalásakor megállapítja (75. oldal), hogy a FENO

koncentráció szignifikánsan nőtt a kezelés során. Véleményem szerint csökkent, amit a grafikonok rendben mutatnak is. Megállapította, hogy FENO méréssel a köpet eosinophilia fennállása biztonságosan megítélhető COPD-s betegekben. Amennyiben későbbi vizsgálatai ezt megerősítik, a FENO mérésnek szerepe lehet COPD-ben az egyes terápiás indikációk felállításában is. Asztma akut exacerbációja során kifejezett savasodást mért az EBC-ben, amely a kezelés hatására normalizálódott. Nem talált ugyanakkor savasodást az EBC-ben COPD akut exacerbációja során. Külön értékelem, hogy nagyon önkritikusan tárgyalja a saját vizsgálatok korlátait is az alfejezetekben. Az 5.3. alfejezetben (egyébként ez néhányszor későbbiekben is megfigyelhető), pontatlan a betegbevonás kizárási kritériumainak a tárgyalása. Ilyen kizárási kritérium pl. a szisztémás szteroid vagy antibiotikus kezelés a hospitalizáció előtt. A kizárási kritériumok akkor lennének pontosak, ha megadná az időtartamot, amin belül az említett gyógyszerek alkalmazása nem megengedett. Korábbi, hasonló vizsgálatok során Bikov PhD értekezésében nem tudott különbséget kimutatni az EBC pH-ban asztmás és nem asztmás csoportok között. Ugyanakkor számos korábbi vizsgálatban szignifikánsan alacsonyabb pH értékeket találtak az asztmás csoportban (Carpagnano és mtsai Chest 2004; Rosias és mtsai. Pediatr Pulmonol. 2004; Nicolaou és mtsai Am J Respir Crit Care Med 2006;). Bikov szintén nem talált különbséget az EBC pH-ban, amikor az asztmás betegek egyes alcsoportjait vetette össze, például a kontrollált betegeket a nem kontrollált asztmásokkal illetve a szteroid naív asztmásokat a szteroiddal kezelttekkel. Ezzel szemben Ratwanati 2006-os közleményében (Pediatric Pulmonol 2006, 41;) egy alcsoport analízis alapján igazolta, hogy az EBC pH azoknál az asztmás betegeknél volt a legalacsonyabb, ahol a FEV1 érték a kell érték kevesebb, mint 80%-a volt. Ennek alapján a PH mérést elsősorban a súlyos illetve a nem kontrollált asztma jó markerének tartotta.

Kérdés: Mi lehet a magyarázata az ellentétes megfigyelésnek az EBC pH-ban COPD-ben és asztmában?

Az 5.5 alfejezetben EBC pH vizsgálatát végezte cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és BOS-ban szenvedő betegekben. Egyik vizsgált betegcsoportban sem talált az EBC-ben jelentős savasodást. Eredményeit tüdődaganatok vonatkozásában egy ez évi a Lung-ban megjelent közlemény megerősíti, amely során a szerzők szintén nem találtak az EBC-ben pH csökkenést tüdőrákban, bár egyes fenotípusokban illetve GOR együttes előfordulásakor az EBC savasodása megfigyelhető volt (Bikov et al. Lung, 2015. augusztus).

Kérdés: Bár a jelölt nem vette figyelembe a GERD együttes jelenlétét a vizsgált betegcsoportokban, mi a véleménye, mennyire befolyásolhatta a kapott eredményeket a GERD jelenléte illetve az alkalmazott reflux ellenes terápia?

A következő fejezetben az EBC citokin mintázatát vizsgálta tüdődaganatos és BOS- ban szenvedő betegekben. A poolozott EBC minták analízisekor különbséget igazolt a rosszindulatú tüdődaganatos és egészséges kontroll valamint a BOS szövődményben szenvedő illetve BOS mentes tüdőtranszplantált betegek citokin mintázatában.

Kérdés: Elfogadva azt, hogy a rendkívül alacsony fehérje koncentrációk miatt a poolozás szükségszerű volt és egyetértve a szerző megállapításával, hogy az individuális minta meghatározás jelentősen növelné a munka értékét, hogyan, milyen módszerrel tartja kivitelezhetőnek ezen egyedi minták mérését?

Végül, az utolsó két alfejezetben, ismét a COPD-s betegek akut exacerbációja során vizsgálta az oxidatív stressz mértékét malondialdehid (MDA) meghatározásával köpetből illetve EBC-ből valamint eikozanoidok vizsgálatával köpetből. Az MDA jó biomarkernek bizonyult a köpetben és további validálást követően igen ígéretes módszernek tűnik a légúti oxidatív stressz nem invazív követésére. Az EBC-ben a mérések reprodukálhatósága nem volt kielégítő. Szerző elsőként igazolta, hogy a PGE2 koncentráció a köpetben stabil COPD-s betegnél nagyon alacsony szintű, azonban akut exacerbáció során jelentősen megemelkedik. Szintén emelkedik a köpetben az LTB4 és a 8-izoprosztán szint, ami az oxidatív stressz súlyosbodását jelentheti.

A jelölt saját, eredendően új eredményeiként fogadom el a következőket:

- 1. Igazolta, hogy az exacerbációban lévő COPD-s betegekben az exacerbáció idején mért FENO koncentráció korrelációt mutat a betegek funkcionális válaszkészségének mértékével. Megállapította, hogy FENO méréssel a köpet eosinophilia fennállása biztonságosan megítélhető COPD-s betegekben és a FENO mérésnek szerepe lehet COPD-ben az egyes terápiás indikációk felállításában is.**
- 2. Bizonyította, hogy az exacerbációban lévő és kórházi ellátásra szoruló asztmás betegek kondenzátum mintái savasabbak az egészségesekhez képest. Az exacerbáció kezelése során az EBC pH-ja normalizálódik, ami felveti a pH biomarkerként való hasznosításának lehetőségét a légúti gyulladás monitorozásában.**

3. **Megállapította, hogy az EBC pH mérése, mint non-invazív vizsgálómódszer nem alkalmas a CF pulmonalis manifesztációinak felismerésében, a tüdőrák diagnosztikájában, és szintén nem látszik alkalmasnak a korai BOS felismerésére és diagnosztizálására tüdőtranszplantált betegek esetében.**
4. **Jelentős különbséget igazolt a rosszindulatú tüdődaganatos és egészséges kontroll valamint a BOS szövődményben szenvedő illetve BOS mentes tüdőtranszplantált betegek citokin mintázatában.**
5. **Bizonyította, hogy az MDA mint a lipidperoxidáció egyik ismert mellékterméke HPLC technika segítségével jól detektálható légúti mintákban. Köpetből jól reprodukálhatóan mérhető, és így az oxidatív stressz-hatás mértéke jól nyomon követhető a stabil, illetve az exacerbációban lévő COPD-s betegekben.**
6. **Igazolta, hogy a PGE2 koncentráció a köpetben stabil COPD-s betegnél nagyon alacsony szintű, azonban akut exacerbáció során jelentősen megemelkedik, az exacerbáció-kezelés következményeként csökken.**

Összefoglalva: **Dr. Antus Balázs** disszertációját értékes és eredeti munkának tartom, mely sok újdonságot és hiteles eredményeket tartalmaz. Ezért javaslom a Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsnak az értekezés nyilvános vitára bocsátását.

Szeged, 2015-10-06

Prof. Dr. Novák Zoltán egyetemi tanár
hivatalos bíráló