Prof. Holló Gábor
egyetemi tanár, az MTA doktora

Tisztelt Professzor Úr!

Engedje meg, hogy fáradságos munkáját megköszönjem a MTA Doktori értekezésem bírálatának elkészítéséért. Mellékelten küldöm az opponensi véleményben feltett kérdésekre megfogalmazott válaszaim, melyek remélem megfelelőek és kielégítő információval szolgálnak.

Tisztelettel,

Dr. Csutak Adrienne

Dr. Csutak Adrienne
PTE, egyetemi docens

Pécs, 2021.06.30.

1) *A diabéteszes retinopátiában vizsgált könnyfehérjék értékeire mennyire lehetett hatással az aktuális vércukorszint? Lehetséges-e, hogy jelentősen ingadozó vércukor értékek esetén egyes könnyfehérjék koncentrációja kevésbé stabil (nagyobb ingadozást mutat az időben), mint jól kontrollált vércukorszint esetén?*

A könnymirigy tubuloacináris egységében zajló fehérjeszintézist, az intersticiális-intravaszkuláris glükóz koncentráció pillanatnyi értéke nagy valószínűséggel lényegesen nem befolyásolja. Az exocrin mirigyek által szintetizált proteinek kvantitatív és kvalitatív összetételének relatív stabilitása jelentős szerepet játszik a sejtek homeosztázisának fenntartásában. A pillanatnyi vércukorszint változásnak azonban jelentősége lehet a könnymirigy acinus és duktusz sejtek bazolaterális (intersticiális) iontranszportereinek (ioncserélők és kotranszporterek) aktivitásában és következményesen befolyásolhatja a paracelluláris víztranszport mennyiségét (a szekretált ionok által létrehozott onkotikus grádiens határozza meg a passzív víztranszport kinetikáját).

A hosszabb ideig stabilan magas vércukorszint, azonban hatással lehet a fehérje transzlációs folyamatokra és így az adott mirigy által termelt szekrétum mennyiségi és minőségi összetételére. Nem ismert, hogy a vizsgálatainkban talált, a diabéteszes retinopátiához kapcsolódó könnyfehérje eltérésekben mekkora szerepe van a hosszabb ideig fennálló hiperglikémiának és/vagy a társuló hipoxiás szövetkárosodásnak. Ennek meghatározására olyan vizsgálati elrendezésre lenne szükség, ahol a szignifikánsan emelkedett HgbA1c-vel rendelkező betegek esetében összehasonlítanánk a diabéteszes retinopátiával diagnosztizált, illetve diabéteszes retinopátiában nem szenvedő betegek könnyfehérje összetételét. Ezzel kapcsolatos irodalmi, vagy saját vizsgálati adatok nem állnak rendelkezésre.

2) *Ismert-e interakció diabéteszben a könnyben mérhető enzimek és a cornea refraktív műtéteit követő urokináz típusú plazminogén aktivátor mintázat között (diabéteszes személyek refraktív kezelése)?*

Az irodalomban erre vonatkozólag igen limitált közlés lelhető fel, melyek közül két publikáció részleges relevanciája emelhető csak ki.

Chung-Ze Wu és mtsai 2019-ben vizsgálták az urokináz-típusú plazminogén aktivátor (uPA) és a 2-es típusú diabétesz mellitusz (T2DM) kialakulása közötti összefüggéseket, állat - és sejtmodellek, valamint T2DM-ben szenvedő páciensek vonatkozásaiban. Vad típusú és uPA knockout (uPA-/-) BALB/c egérmodellt alkalmaztak a T2DM indukálása érdekében. Sejttenyészetben az inzulin szekréció sebességét és a Langerhans β-sejtproliferációt értékelték, normál és magas glükóz szintekben, uPA siRNS, uPA, illetve anti-uPA antitestekkel történt kezeléseket követően. A T2DM-ben szenvedő páciensek klinikai vizsgálatai során, orális glükóz-tolerancia teszt mellett vizsgálták az uPA és az inzulin szekréció közti kapcsolatot. Vizsgálati eredményeik alapján a vad típusú egerek T2DM indukcióját követően, az inzulinrészecskék és az inzulinszekréció kb. egy hónap alatt állt helyre, mely azonban nem volt megfigyelhető az uPA -/- egerek vonatkozásában. Sejttenyészetben kimutatható volt, hogy magas glükózszint esetén az inzulin szekréció sebessége és a β-sejtek proliferációja is csökken, az uPA géncsendesítésekor (siRNS-el vagy anti-uPA antitesttel). Ezzel szemben, uPA kezelés alkalmazását követően, a β-sejtek proliferációja normál glükózszint esetében is növekedett. T2DM-ben szenvedő páciensek klinikai vizsgálatai során a magasabb uPA-szinttel rendelkező betegek inzulinszekréciós képessége jobbnak bizonyult, mint alacsonyabb uPA értékekkel bíró betegtársaiké.
A munkacsoport vizsgálati eredményei alapján az uPA jelentős szerepet játszhat az inzulin szekréciójában, a Langerhans β-sejtek regenerációjában és a T2DM progresszív patogenézisében is.

Spadea és Paroli (2012) irodalmi áttekintése alapján diabétesz mellituszban (DM) szenvedő páciensek esetén végzett refraktív műtétek komplikációs rátája magas; a corneális abláció kevésbé tervezhető, a cornea sebgyógyulása lassúbb, az epiteliális benövések - LASIK esetén - gyakoribbak, a száraz szem panaszok jelentősebbek, továbbá a refraktív beavatkozás a retinopathiára is hatást gyakorolhat, ezért csak nagyon szoros vércukor kontroll és stabil állapot mellett, megfontolással végezhetőek ilyen típusú műtéti beavatkozások. A fentiekben részletezett magas komplikációs ráta az egyik magyarázata annak, hogy ezen betegségcsoportban limitáltan érhetőek el publikált eredmények és releváns közleményt a Professzor Úr által feltett kérdésre nem leltem fel az irodalomban.

3) *Mennyire tartja a gyakorlatban jól hasznosíthatónak a könnyfehérjék meghatározását, illetve az in vivo konfokális cornea mikroszkópia (IVCCM) használatát a diabetes mellitus szemészeti szövődményeinek tömeges szűrésében (akár kombinált diagnosztikai eljárás részeként is), különös tekintettel arra), hogy a mobil telefonhoz kapcsolható fotográfiás szemfenéki szűrérések szükségtelenné tehetik a közvetlen egészségügy - beteg találkozást?*

A szemészetben alkalmazott mobil applikációk az elmúlt pár évben jelentős fejlődésen mentek keresztül (Daniel T Hogarty, Surv Ophthalmol, 2019); melyet a COVID-19 pandémia nagymértékben felgyorsított. Az okostelefonok használata egyre gyakoribb és gyorsan fejlődő eszközöknek tekinthetőek a klinikai gyakorlati alkalmazásban is. Számos egészségügyi vonatkozású applikáció érhető el okostelefonokon, melyek célja a klinikusok feladatainak segítése (mind helyszíni, mind távelérés formáiban). Napjainkra számos a szemészethez kapcsolódó orvosi alkalmazás is elérhetővé vált, melyek klinikailag releváns funkciókat képesek ellátni, gyorsan és könnyem elérhetőek a virtuális üzletekben (pl. Google Play Áruházban vagy Apple App Store-ban), melyek lehetővé teszik/tehetik a szem elülső és hátsó szegmensének vizualizálását és fotódokumentálását.

A rendelkezésre álló programok - jelentős számuk ellenére – sem rendelkeznek még elegendő bizonyítékon alapuló, egyértelmű szabályozással, validálással, továbbá az információk biztonsága sem egyértelműen kidolgozott, számos esetben nem illeszkednek a nemzeti digitális rendszerekhez.

Európában Hollandia áll az élen fejlett szűrőprogramjai automatizálásában (pl.: emlőtumor, cervix rák, diabéteszes szűrőprogram) computer asszisztált támogatásában. A mesterséges intelligencia kiaknázása szerves részét képezi nemzeti szűrőprogramjai fejlesztésének. A világon elsők között alkalmazzák a diabéteszes retinopátia szűrésében, klinikai rutinban - nem pusztán tudományos célzattal - a computer asszisztált támogatást.

A mesterséges intelligencia keresi a helyét az orvostudományban és nagyon gyors fejlődésen megy keresztül, fontos azonban, hogy ezt a gyors fejlődést a jogi környezet alakulása is követni tudja.

Ismert és keresett fehérjék vonatkozásában gyorstesztek viszonylag könnyen, gyorsan és költséghatékonyan készíthetőek, mellyel a szűrések pontossága tovább fokozható, ezért a fehérjék vonatkozásában az általunk megismert eredmények a gyakorlati alkalmazásában jelentősek lehetnek.

Az IVCCM legfontosabb szerepét a retinopátiát és mikroalbuminurát megelőző, perifériás idegeket érintő és nem megfelelő diabéteszes kontrollt jelző elváltozások korai detektálhatóságában és ezzel a későbbi morbiditás megelőzésében látom.

Ismerve a technika és az informatikai rendszerek igen gyors fejlődését, az IVCCM jelenleg alkalmazott kontakt módszere, akár rövid időn belül non kontakt formában is elérhetővé válhat, mely a közeljövőben orvos beteg találkozás nélkül is elérhetővé teheti a készülék alkalmazhatóságát. A képanalízist segítő, jelenleg félautomata szoftver rendszere is rohamosan fejlődött az elmúlt pár év alatt, mely további gyors diagnosztikai döntéssegítő rendszer lehetőségét hordozza magában.

Összegezve Professzor Úr kérdésére adott válaszom, mindhárom módszernek abszolút helyét látom a jövő – akár orvos beteg kapcsolatot nélkülöző – diagnosztikai platformján.

4) *Az állatkísérletes modellben a cornea fekélyt lúgsérülés modellben vizsgálták. Van-e a Jelöltnek adata arról, illetve végeztek-e kiegészítő kísérleteket arra vonatkozóan, hogy a cornea bakteriális és egyéb infekciós fekélyeinek gyógyítására (a standard kezelés mellett) a rekombináns plazminogén aktivátor inhibitor-2 fúziós fehérje szemcsepp alkalmas-e?*

Ilyen jellegű vizsgálatokat ezidáig nem végeztünk, azonban ismereteink alapján, magunk is tervezzük alkalmazását - tudományos jelleggel - virális conjunctivitiszek vonatkozásában. A celluláris, bakteriális és virális proteázok a szem elülső szegmensében lejátszódó folyamatokban alapvető szerepet játszanak.

Tőzsér és mtsai 1989-ben a Clin Chim Acta-ban publikálták, hogy súlyos szaruhártya- és kötőhártya-gyulladásban, valamint kémiai sérülésekben (pl. mészsérüléseknél) magas uPA aktivitás mérhető a könnyben. Ezen tény ismeretében a rekombináns

plazminogén aktivátor inhibitor-2 fúziós fehérje szemcsepp, valószínűleg hatékonyan volna alkalmazható a szem elülső szegmentumát érintő gyulladásos kórképekben.

5) Sikerült-e gyakorlati alkalmazássá tenni a rekombináns plazminogén aktivátor inhibitor-2 fúziós fehérje szemcseppként történő használatát a szaruhártya fekélyek gyógyításában? Ha igen, kérem, röviden foglalja össze a gyakorlati tapasztalatokat.

A szabadalom a Debreceni Egyetem portfóliójába került, mely a piackutatás eredményeinek ismeretében - az epidemiológiai adatokat figyelembevéve - originális gyógyszerfejlesztés esetén szerény piaci szegmenst jelentett volna, ezért nem történtek további lépések a termékfejlesztés irányába. Az elülső szegmentum gyulladásos folyamatainak további vizsgálata azonban, újabb piaci szegmens lehetőségét rejtheti magában.