

bhattoa.harjit.pal\_23\_22

**MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**A CSONTANYAGCSERE ÉS A D-VITAMINHÁZTARTÁS BIOKÉMIAI MARKEREI.  
ANALITIKAI KIHÍVÁSOK, KLINIKAI ALKALMAZÁSOK**



**DR. BHATTOA HARJIT PAL**

**DEBRECENI EGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
LABORATÓRIUMI MEDICINA INTÉZET**

**Debrecen, 2022**

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS .....	3
1.1.	A csontforgalom markerei (Bone Turnover Markers – BTM) .....	4
1.2.	A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-marker (BTM) tesztek és teljesítőképességük.....	9
1.3.	OPG-RANK-RANKL-Cisztatin C.....	10
1.4.	Szklerosztin .....	11
1.5.	D-vitamin .....	11
2.	CÉLKITŰZÉSEK .....	18
3.	VIZSGÁLATI SZEMÉLYEK ÉS MÓDSZEREK .....	19
3.1.	Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány .....	19
3.2.	A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány .....	20
3.3.	A terhességi és laktációs tanulmány .....	21
3.4.	A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata.....	22
3.5.	A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány .....	23
3.6.	Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya .....	24
3.7.	A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya a HunMen kohorsz mintáin .....	27
3.8.	A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya .....	28
3.9.	Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról.....	29
3.10.	A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány .....	30
4.	EREDMÉNYEK .....	31
4.1.	Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány .....	31
4.2.	A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány.....	32
4.3.	A terhességi és laktációs tanulmány .....	35
4.4.	A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata.....	35
4.5.	A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány .....	36
4.6.	Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya .....	38
4.7.	A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin .....	41
4.8.	A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya .....	41
4.9.	Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról.....	42

4.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány .....	43
5. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK .....	45
5.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány .....	45
5.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány .....	48
5.3. A terhességi és laktációs tanulmány .....	52
5.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata.....	54
5.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány .....	56
5.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör- beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya .....	58
5.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin .....	63
5.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya .....	64
5.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról.....	66
5.10. A COVID-19 járvány, léguti fertőzések és D-vitamin tanulmány.....	68
6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK .....	71
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	74
8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK .....	75
9. AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM TÁRGYALT NEMZETKÖZI ÉS HAZAI KÖZLEMÉNYEK .....	77
10. KÖNYVFEJEZET, SZAKTANULMÁNY .....	82
11. CSOPORTOS (MULTICENTRIKUS) KÖZLEMÉNYBEN KOLLABORÁCIÓS KÖZREMŰKÖDŐ .....	84
12. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK .....	85

## 1. BEVEZETÉS

A macrophag sejtvonalból származó osteoclastok végzik a csontlebontást és a mesenhyimális sejtvonalból származó osteoblastok végzik a csontképzést (felépítést). Ezek a folyamatok ideális esetben összehangoltan zajlanak a felnőttkori csontszövetben („bone turnover” – csontforgalom). Ha megbomlik a csontforgalmi egyensúly, kialakulnak a csonttömeg- és funkcióvesztéssel járó csontanyagcsere-betegségek, köztük a leggyakoribb oszteoporózis. Ezek diagnózisa, nyomonkövetése, súlyosságuknak és kezelésük hatékonyságának megítélése a hagyományos radiológiai módszerekkel megoldhatatlannak bizonyult, sőt a ma még általánosan használt csont denzitometria sem tud a felmerülő kérdésekre kellően gyors választ adni. A csontanyagcsere betegségek – köztük az oszteoporózis gyakorisága – különösen az időskorúakban - szükségessé tette további, gyorsabb diagnózist ígérő módszerek bevezetését. Értekezésemben bemutatom a csontépítést és csontlebontást tükröző biomarkereket (BTM), amelyek célszerű és kiterjedt alkalmazása a nemzetközi és hazai irodalmi közlések szerint lehetővé teszi a csontvesztés korai felismerését.

Közleményeim alapján megvizsgáltam a a klinikai kockázati tényezőkre alapozott FRAX törési kockázatbecslő program, a röntgensugár-elyelődésen (DXA) alapuló csont ásványianyag-sűrűség (BMD) mérés, és a csontforgalmi markerek (BTM) mérések kombinált alkalmazását az oszteoporózis korai felismerésére. A laboratóriumi BTM mérések körülményeinek és a minőségének biztosítása értekezésem egyik fő témája. Ezt a megközelítést alkalmasnak tartom célzott népességi szűrés végzésére az oszteoporózis korai felismerésére és kezelésére a gyakori következményes csonttörések kockázatának jelentős csökkentésére.

Külön fejezetekben részletesen foglalkozom a D-vitamin és egyéb bioaktív anyagok szerepének vizsgálatával a csontok és egyéb szervrendszerek egészsége és betegsége szempontjából, valamint laboratóriumi analitikájuk időszerű kérdéseivel.

## 1.1. A csontforgalom markerei (Bone Turnover Markers – BTM)

Ilyen markerek a kollagén bomlási termékek, melyek az osteoclast tevékenységet tükrözik, valamint az osteoblastok által termelt kollagén-, és nem-kollagén fehérjék (1. táblázat).

1. táblázat. A csontforgalom biokémiai markerei.

Csontképződés markerei	Csontlebontás markerei
Oszteokalcin (OC) Csontspecifikus alkalikus foszfátáz (BSAP) I. típusú kollagén C-terminális propeptidje (PICP) I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidje (PINP)	I. típusú kollagén C-terminális telopeptidje ( $\beta$ -CTX) I. típusú kollagén N-terminális telopeptidje (NTx) Kollagén piridinolin keresztkötései Kollagén deoxipiridinolin keresztkötései Tartarát-rezisztens savi foszfátáz (TRAP)

### 1.1.1. A csontlebontás markerei

#### 1.1.1.1. Az I. típusú kollagén C- és N-terminális telopeptidjei

Az érett I. típusú kollagén hármas helix  $\alpha$ 1-láncából szabadulnak fel a carboxy- végződésű telopeptid fragmentumok ( $\beta$ -CTX és NTx). A csontbontás mértékét jelző assay antitestje az  $\alpha$ 1 C telopeptid-láncban felismeri a “Glu-Lys-Ala-His-Asp- $\beta$ -Gly-Arg” szekvenciát, amelyet röviden crosslaps-nak neveznek, valamint a  $\beta$ -aszpartátsavat, együttes néven  $\beta$ -CTX-et. Az NTx polypeptid mérése csak vizeletmintából valósult meg,  $\beta$ -CTX azonban szérummintából is mérhető automatizált mérőrendszerekben, ez is növelte népszerűségét a laborszakmában és eredményezte ma már szinte kizárólagos használatát. Eltávolítása a szervezetből, hasonlóan az NTx-hez, a vese által történik, emiatt klinikai alkalmazhatósága krónikus vesebetegség (CKD) esetében erősen korlátozott.

### 1.1.2. A csontképzés biomarkerei

#### 1.1.2.1. Az I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidjei

Az osteoblastok a csontépítés folyamatában I. típusú kollagént választanak ki prokollagén formájában, ami hármas (trimer) helix formájában képződik, két  $\alpha$ 1 és egy  $\alpha$ 2-láncból áll, N- és C-terminális propeptideket (PINP és PICP) tartalmaz melyek a csontképzés vérben keringő markereinek tekinthetők. A propeptidek a keringésbe jutva monomér formára bomlanak szét. A trimér PINP a májon át ürül, míg a monomért a vese választja ki. A PINP meghatározási

módszerek vagy a mono- és trimér formát együtt mérik (totál PINP), vagy csak a trimér formát (intakt PINP). A csontképzési markerek közül a PINP gyakoribb alkalmazása, gazdagabb irodalmi háttere miatt egyértelműen kiemelkedik.

### **1.1.2.2. Oszteokalcin**

Az oszteokalcin (OC) a leggyakoribb nem-kollagén fehérje csontszövetben. Az osteoblastok képzik és választják ki és eredetileg a csontképzés mércéjének tekintették szoros kapcsolata miatt csontképződés hisztomorfometriai paramétereivel. Kiderült azonban, hogy termelődése az osteoclastos csontbontás során is fokozódik, így helyesebben a csontforgalom (építés és lebontás - turnover) mércéjének tekinthető. Az oszteokalcin mérés szerepe jelentősen korlátozott a veseműködés beszűkülése esetén, mivel az OC főleg a veséken át ürül.

### **1.1.2.3. Csontspecifikus alkalikus foszfatáz**

Egészséges, nem terhes felnőttekben a keringő összes alkalikus foszfatáz csaknem fele a csontokból származik, az osteoblastok termelik, míg a fennmaradó hányad javát a hepatocyták képzik. A csontspecifikus alkalikus foszfatáz (Bone Specific Alkaline Phosphatase - BSAP) elsődlegesen bontja a mineralizációt gátló pirofoszfátot. Kereskedelmi forgalomban kapható BSAP meghatározási módszere az immunoassay, de a csont- és májeredetű AP között jelentős a szerkezeti átfedés, emiatt májbetegségben alkalmazása erősen korlátozott. A BSAP szintek pozitív korrelációt mutatnak a törési kockázattal krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben.

*Összefoglalva*, a csontforgalmi markerek alkalmazása a csontvesztéssel járó csontanyagcsere-betegségek korábbi felismerését teszi lehetővé, mint a klinikai diagnosztikában korábban csaknem egyedül alkalmazott csont ásványianyag-sűrűség (BMD) mérés, amely csak pillanatképet ad csak a csontállományról, a BTM szintek azonban a csontforgalom dinamikájáról adnak információt. A két módszer kombinált alkalmazása a később tárgyalandó FRAX törési kockázatbecsléssel együtt az oszteoporózis és következményes fokozott törési kockázat korábbi felismerését teheti lehetővé.

### **1.1.3. Pre-analitikai és analitikai megfontolások a rutin laboratóriumban végzett csontforgalmi marker-meghatározásokról**

A csontforgalom biomarkerei figyelemreméltóan érzékenyek több pre-analitikai és analitikai tényezőre.

Technikai pre-analitikai kérdések a mintagyűjtést illetően főleg a vizeletminták esetében merülnek fel, azonban ma már szinte kizárólag vérmintából dolgozunk.

A legnagyobb, továbbra is fennálló kihívás a vizsgálati minták változatossága a biológiai sajátosságok miatt. A leleteket felhasználó klinikusnak figyelembe kell venni, hogy a mérési eredményeket számos külső és endogén tényező befolyásolja.

A csontmarkerek normál vérszintjei rendszerint magasabbak gyermekekben, a csontképződés (formáció) időszakában, mint egészséges felnőttekben a csontszövet megújuló és a változó terhelési igényekhez alkalmazkodó átépülése alatt. Idősödő egyéneknél a mért értékek csökkenhetnek, de nőkben a menopausa után a csontforgalom fokozódása miatt emelkedést írtak le. Betegségek, kóros állapotok megemlethetik a BTM szintjeit. Példa erre az immobilizált személyek esete. Emelkedett vérszinteket mutattak ki csonttörések után akár 6 hónapig terjedően és számos betegségben, mint a primer hyperparathyreosis, súlyos D-hipovitaminózis, a Paget kór, myeloma multiplex, valamint a metasztatikus prosztata- és emlőrák. A kóros vese funkció is emelkedett marker-szinteket eredményez, különösen a monomér PINP, a  $\beta$ -CTx és az oszteokalcin esetében, amelyek a szervezetből a vesével ürülnek.

Néhány további tényező, mint pl. a napszaki ritmus, a menstruációs ciklus, az évszaki változások, a fizikai terhelés és az étrend jelentősen befolyásolhatja a BTM szinteket.

Mindkét irányú csontforgalom jelzőinek vérszintje a téli hónapokban a romló D-vitamin-ellátottságot tükrözi.

A csontforgalom biomarkerei jelentős analitikai variabilitást mutatnak, a különböző gyártóktól származó tesztekkel ugyanazon mintából jelentősen eltérő eredményt kaphatunk. A Laboratóriumi Medicina nemzetközi szervezetének (IFCC) munkacsoportja együttműködésben az International Osteoporosis Foundation (IOF) társ-akciócsoportjával folyamatosan dolgozik a különböző assay-módszerek harmonizálása érdekében. Továbbá a külső minőségellenőrző (EQC) programokban való rendszeres részvétel segíthet a laboratóriumok eredményei közötti variációk minimalizálásában.

## **1.1.4. A csontforgalom biomarkereinek klinikai alkalmazhatósága**

### **1.1.4.1. Az anti-oszteoporotikumok terápiás hatékonyságának és a kezelés folyamatosságának (compliance) monitorizálása**

Ismereteink java a csontmarkerek használhatóságáról az új oszteoporosis-ellenes gyógyszerek klinikai vizsgálatának közleményeiből származik. Ezek szerint alkalmasak a terápia előidézte csont-ásványanyag-denzitás növekedés és a törési kockázatcsökkenés előrejelzésére. Az antirezorptív szerek hatásmechanizmusából következik, hogy terápiás hatékonyságuk arányosan

tükröződik a rezorpciós markerek csökkenő vérszintjében. A csontfelszívódás és -képződés sejszintű biológiai folyamatai egymáshoz kapcsolódnak oly módon, hogy a csontbontás gátlása egyben a csontképzés fékezésével is jár és ez a releváns markerszintekben tükröződik. A kezelésben részesülő páciensek marker-szintjeinek 3-6 havonkénti vizsgálata informálja a kezelőorvost a terápia hatékonyságáról és a betegek terápia-ragaszkodásáról. A terápia DXA-monitorizálása esetén viszont legalább 1 évnek kell eltelnie a csontsűrűség szignifikáns változásának megállapítására. Az oszteoporosis leggyakrabban használt gyógyszerei jelentősen eltérő mértékben növelhetik a csontdenzitást hasonló törési kockázatsökkentés esetén is, pl. a biszfoszfonátok jelentős BMD-növekedést okoznak, míg az ösztrogének és a raloxifen kismértékűt (2. táblázat).

2. táblázat. Változások a csont biokémiai markerek szintjeiben különböző csonttrikulás elleni gyógyszerek mellett.

Csontmarker	Típus	Terápia	Célértékek	Utánkövetési Gyakoriság
$\beta$ -CTx	Reszorpciós marker	Anti-rezorptív	minimum 35% ↓	Kiinduláskor és 6 havonta
PINP	Formációs marker	Anti-rezorptív	minimum 40% ↓	
		Anabolikus	minimum 40% ↑	
Oszteokalcin	Csontforgalmi-marker	Anti-rezorptív	minimum 20% ↓	

Az antirezorptív szerekkel történő kezelés, mint pl. az ösztrogének, szelektív ösztrogénreceptor-modulátorok (raloxifen), biszfoszfonátok (alendronát, rizedronát) és denoszumab a csontbontási- és csontépítési-markerek szintjét egyaránt csökkentik. A humán rekombináns PTH kezelés a csontképzési markerek vérszintjét növeli, melyet a felszívódási markerek szintemelkedése késéssel követ.

A BTM-szintek korai csökkenése biszfoszfonát és denoszumab kezelés korai időszakában korrelál a következő 2-3 év alatti BMD-növekedéssel.

Alendronát-kezelés hatására a gerinc és csípőtáj törési kockázatának jelentősebb csökkenését kövölték a BTM-szintek (PINP, BSAP,  $\beta$ -CTx) korai markáns süllyedése esetén.

#### 1.1.4.2. A csontvesztés és törési kockázat előrejelzése

Populációs vizsgálatok adataiból tudjuk, hogy az emelkedett marker szintek előrejelzik az egyének fokozott csontvesztését és a nem-traumás csonttörések fokozott kockázatát, függetlenül a hajlamosító betegségek, életkor és nemi hovatartozás hatásaitól. Nincsenek azonban még prospektív randomizált klinikai vizsgálatok egy erre épülő népegészségügyi szűrőprogram hatékonyságának és egészséggazdasági jogosultságának igazolására.



#### **1.1.4.3. BTM alkalmazások a nephrologiában**

A végstádiumú veseelégtelenség rendszerint renális oszteodisztrófiával társul, melynek fő mutatói közé tartozik a kalcitriol-hiány és az emelkedett paratireoidea hormon (PTH) értékek (másodlagos hyperparathyreosis). A betegség jellemzője a fokozott csontanyagcsere a keringő csontforgalmi-markerek szintjének következményes emelkedésével. A csontmarkerek közül csak a TRAP és BSAP nem ürül a vesén át, így ezek tükrözik a csontforgalom állapotát. A monomér PINP, az oszteokalcin és a  $\beta$ -CTx szintek jellemzően emelkednek, de az emelkedés nem a csont turnover fokozódása miatt jön létre. A PTH szintek közismerten kapcsolódnak a csontforgalommal. A gyakorlatban tehát egyedül a BSAP és a PTH tekinthető a renális osteodystrophia megbízható csontanyagcsere-mércéjének.

#### **1.1.4.4. BTM szintek onkológiai betegekben**

A szolid tumorok, mint a prosztata-, tüdő- vagy emlőrákok, illetve a myeloma multiplex gyakran csontáttétet adnak. Az áttét lehet oszteolitikus, vagy oszteoblasztikus. A rezorpciós markerek domináns emelkedése az oszteolitikus tumorra jellemző, míg a csontépités markerei az oszteoblasztikus csontdaganatokra. A csontforgalmi-markerek tumor markerként is használhatók, amikor elsődleges csontdaganatból származnak.

#### **1.1.4.5. Csontanyagcsere-markerek a reumatológiában**

A legtöbb reumatológiai betegség patogenezise gyulladáshoz vezet, ezáltal fokozzák a csontlebontást és fékezik a csontépitést. Ezekben a betegségekben a csontbontás és -épités élettani fontosságú összekapcsolódása (coupling) gyakran megbomlik és ez a jelenség a csontmarkerek szintjeiben is tükröződik, amint azt rheumatoid arthritis, polymyalgia, arthritis psoriatica, spondylitis ankylopoetica és arthritis reactiva esetében leírták.

#### **1.1.4.6. Alkalmazásuk a csont Paget-kórjában**

A Paget-kór olyan csontanyagcsere-betegség, amelyet erősen fokozott turnover jellemez. A PINP koncentrációk egybehangzó vizsgálati eredmények szerint jól korrelálnak a betegség aktivitásával és az antirezortív kezelésre adott válasz mértékével, eszerint a csontforgalmi markerek alkalmasak mind a Paget-kór diagnosztikájában, mind pedig a betegség folyamatának monitorizálásában.

## 1.2. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-marker (BTM) tesztek és teljesítőképességük

### 1.2.1. PINP tesztek

Az első PINP tesztsomagok poliklonális ellenanyagot alkalmaztak, valamint enzim-kötésű immunoszorbens assay (ELISA) és radioimmunoassay (RIA) technikát. Az antitestek a PINP két molekuláris formáját ismerik fel ebben az ELISA-ban, de a <sup>125</sup>I-jelzésű RIA-ban csak a nagyobb molekulásúlyú változatot. A trimér formát mérő módszereket intakt PINP-assay-nek nevezzük, a trimér és monomér formát együtt mérő eljárásokat a teljes PINP-assay kategóriába soroljuk.

Jelenleg a kereskedelmi forgalomban négy tesztsomag kapható a szérum PINP mérésére. (3. és 4. táblázat).

3. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő 4 tesztsomag bemutatása a szérum I. típusú kollagén N-terminális propeptidjének (PINP) mérésére.

Gyártó	Módszer	Mit mér?	Mérési forma
Orion Diagnostica, Finnország	Radioimmunoassay	Intakt PINP	Manuális
Immunodiagnosics Systems (IDS), Egyesült Királyság	Kemilumineszcens immunoassay	Intakt PINP	Automata
Roche Diagnostics, Németország	Elektrokemilumineszcens immunoassay	Teljes PINP	Automata
Uscn, Life Science, Kína	Enzim-kötésű immunoszorbens assay	Teljes PINP	Manuális

4. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő négy PINP tesztsomag teljesítőképessége.

Gyártó	Mérési tartomány	Kimutatási határ	Intra-assay CV	Inter-assay CV
Orion Diagnostica, Finnország	5 – 250 µg/L	2,3 µg/L	2,3 – 3,5%	2,7 – 6,1%
iSYS (IDS), Egyesült Királyság	2 – 230 µg/L	2,0 µg/L	2,6 – 3,0%	4,2 – 5,3%
Roche Diagnostics, Németország	5 – 1200 µg/L	5,0 µg/L	1,4 – 2,3%	2,1 – 4,5%.
Uscn, Life Science, Kína	0,78 – 6,2 µg/L	0,041 µg/L	2,9 – 4,9%	4,6 – 5,3%

### 1.2.2. β-CTx tesztek

Az összes β-CTx módszer a CrossLaps ellenanyagokat alkalmazza (Osteometer BioTech A/S, Dánia), ami egy 8 aminosavat tartalmazó szekvenciát ismer fel a kollagén α1 lánc C-terminális telopeptid régiójában. A β-CTx mérését reggeli éhomi vérvétel EDTA-plazmájából végezzük.

5. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő assay csomagok a  $\beta$ -CTx vérből történő mérésére.

Gyártó	Módszer	Mit mér?	Technika
IDS, Egyesült Királyság	Kemilumineszcens immunoassay	$\beta$ -CTx	Automata
Roche Diagnostics, Németország	Elektrokemilumineszcens immunoassay	$\beta$ -CTx	Automata
IDS, Egyesült Királyság	Enzim-kötésű Immunosorbens assay	$\beta$ -CTx	Manuális

6. táblázat. Két automatizált és egy manuális  $\beta$ -CTx-mérőmódszer teljesítőképessége.

Gyártó	Mérési tartomány	Alsó kimutatási határ	Intra-assay CV	Inter-assay CV
iSYS, IDS, Egyesült Királyság	0,050-6,000 $\mu$ g/L	20 ng/L	2,7-3,7%	2,5-5,2%
Roche Diagnostics, Németország	0,010-6,000 $\mu$ g/L	10 ng/L	1,2-4,1%	<5,7%
CrossLaps®, IDS, Egyesült Királyság	0,020-3,380 $\mu$ g/mL	20 ng/L	<2,5%	2,2-5,5%

### 1.3. OPG-RANK-RANKL-Cisztatin C

Az *osteoprotegerin* (OPG) és a *nukleáris faktor- $\alpha$ B ligand receptor aktivátora* (RANKL) a tumor necrosis factor receptor szupercsalád két tagja és experimentális adatok szerint fontos szerepet töltenek be a csontfelszívódás szabályozásában. Az OPG oldékony áltreceptor, az oszteoblasztok és más sejttípusok választják ki és vetélkedve köti a RANKL-ot. A RANKL elsődlegesen az oszteoblasztok által expresszálódik, receptora, a RANK pedig a pre-oszteoklasztokban és ezen sejtvonal más sejtjeiben. Amikor a RANKL kötődik a RANK-hoz, beindul az oszteoklasztogenezis és megkezdődik a csontfelszívódás, amelyet kivédhet, ha az OPG kötődik a RANK-hoz.

Az OPG/RANKL szerepét illetően az emberi élet- és kórélettanban, diagnosztikában valamint a cisztatin C - OPG - RANKL trió kapcsolatrendszerét csak korlátozott számban vizsgálták, nincs róluk egyértelmű kép. *In vitro* vizsgálatok azonban azt sugallják, hogy a cisztein proteináz gátló cisztatin C fékezi az oszteoklasztogenezist. A kis molekulású fehérje cisztatin C alkalmazását filtrációs biomarkerként is javasolják a kreatinin helyett, mivel vérszintje nemtől, izomtömegtől és életkortól független – következésképpen a kreatininnél jobban teljesíthet, mint a veseműködés közvetett markere, amikor a csökkent protein-kiválasztás szerepét vizsgáljuk a kor-függő OPG-szint emelkedés lehetséges okaként.

## 1.4. Szklerosztin

A szklerosztin fehérje egy nem klasszikus csont morfogenetikus protein antagonistája, melyet az oszteociták termelnek és befolyásolja az oszteoblasztok differenciálódását, aktivitását, csökkenti élettartamukat. A szklerosztinról fékezi az oszteoblaszt differenciálódást és a csontképzést a frizzled/LRP5/6 receptorok transzmembrán jelzőrendszerének gátlásával – ebből következik, hogy a szklerosztin gátlása terápiás reményt nyújthat a csökkent csonttömeggel járó betegségekben. Ennek bizonyítékaként a szklerosztin monoklonális ellenanyaga a romoszomab bizonyító erejű RCTk közlése után 2019 óta a posztmenopauzális oszteoporózis kezelésére, a csonttörések kockázatcsökkentésére az FDA és más farmakológia szabályozó hatóságok által engedélyezett gyógyszerként forgalomban van.

A szklerosztin vérszintekről máig csak egy tanulmányt végeztek idős férfi populáción, ezért döntöttünk úgy, hogy elemezzük az 50 évnél idősebb férfiak endogén szklerosztin szintjeit meghatározó tényezőket egy hazai vizsgálati csoportban.

## 1.5. D-vitamin

A D-vitamin a csont- és izomszövet fejlődéséhez és működésük fenntartásához szükséges hormon. A kalcium és foszfát homeosztázis megtartásában játszott fontos szerepe miatt jelentősége a csontanyagcserében is kulcsfontosságú. Ezen túl számos nem-vázrendszeri betegség keletkezését is kapcsolatba hozzák a D-vitamin-hiánnyal.

Embereken végzett megfigyelések is azt sugallják, hogy a D-vitamin hiánya szinte minden betegségtípussal kapcsolatba hozható. Ezzel szemben a randomizált kontrollált tanulmányok és a Mendeli randomizációs elven végzett vizsgálatok eredményei ellentmondásosak. Vizsgálatainkra alapozott véleményem szerint a nyitott kérdések megválaszolására szabályosan megtervezett alapkutatási és klinikai tanulmányok szükségesek, amelyben egységes kiindulási D-vitamin-szintek szerepelnek, valamint a D-vitamin-adagolás ellenőrzötten történik hogy létrejöjjenek az ok-okozati összefüggés, valamint a dózis-függőség igazolásának feltételei. Hasonlóan történhet a D-vitamin-hiány és egyes betegségek megjelenése, tünetei közötti összefüggések vizsgálata a hiány mértéke és betegség-tünetek “dózis-függésének” kapcsolatáról.

## 1.5.1. A D-vitamin forrásai és képződése

A D-vitamin zsírolékony szekoszteroid, amelynek szintézisét és lebomlását emberben számosan vizsgálták, ezalatt több, mint 50 anyagsere-termékét azonosították. Két fő formája a D2 (ergokalciferol) és a D3 (kolekalciferol), köztük csak csekély szerkezeti különbség van.

A D2 vitamin szerkezetbeli különbségei gyengítik a D-vitamin kötőfehérje (VDBP) iránti affinitását, ezért a véráramból gyorsabban távozik. A D3 erősebben növeli a szérúm 25OHD szintjét, ezért pótlás szüksége esetén ennek alkalmazása előnyösebb. A D3-vitamin 7-dehidrokoleszterinből (7-DHC) képződik a bőrben az UVB sugárzás hatására.

Emberben a D3-vitamin fő forrása bőrben a napfény általi képződés, a táplálékok és pótlás szintetikus készítményekkel. Az ételek többségében (kivéve az olajos halakat) kevés D-vitamin van, kivéve, ha fortifikáltak.

## 1.5.2. A D-vitamin metabolizmusa

A bőrben képződött D-vitamin a véráramba diffundál, ahol kötőfehérjéhez (VDBP) kötődése után a májba jut. A bélrendszerbe kerülő D-vitamin a vékonybélből a nyirokkeringésbe kerül, onnan a vénás véráramba, ahol VDBP-hez és lipoproteinekhez kötődik, majd a májba kerül. A D-vitamin biológiailag inaktív – aktiválódásához két hidroxiláció kell átmennie. Az első a májban történik C25 pozícióban a citokróóm p450 enzim CYP2R1 által. A folyamat eredménye a 25-hidroxivitamin D (25OHD). A 25OHD koncentráció a D-vitamin-felvétellel arányosan növekszik, vagyis a plazma 25OHD szintek jó tükröi a D-vitamin-ellátottságnak. A második hidroxiláció eredménye az 1 $\alpha$ ,25-dihidroxi D-vitamin [kalcitriol, 1 $\alpha$ ,25(OH)2D] képződése a vesében a CYP27B1, vagy 1 $\alpha$ -hidroxiláz közreműködésével. A kalcitriol VDBP- kötésben kerül a vérkeringésbe.

A vese 1 $\alpha$ -hidroxiláz aktivitását szorosán szabályozza az 1,25(OH)2D önmagában, a PTH, a fibroblaszt növekedési faktor 23 (FGF23), valamint a szérúm kalcium és foszfát koncentráció. Az FGF23 befolyásolni képes a kalcitriol szintézisét is a proximális tubulus-sejtekben az 1 $\alpha$ -hidroxiláz kifejeződésének elfojtásával és a 24-hidroxiláz kifejeződésének fokozásával.

## 1.5.3. A D-vitamin metabolitok mérése

Napjainkra több, mint 50 D-vitamin metabolitot írtak le és kémiailag jellemeztek, közülük némelyiknek a biológiai aktivitását is vizsgálták. Mérési módszert azonban közülük csak ötre fejlesztettek ki (25OHD2, 25OHD3, 1 $\alpha$ ,25(OH)2D, 24R,25(OH)2D és C3-epi-25OHD). Ezek a metabolitok jelen vannak a vérszérúmban mérésre alkalmas koncentrációban. Biológiai

aktivitásuk jelentősen különbözik, például az  $1\alpha,25\text{OHD}_2$  ötször hatékonyabb, mint a D-vitamin a bélből felszívódás és a csontokból való mobilizálás tekintetében. Biológiai aktivitásukat jelentősen meghatározza VDR-kötődésük affinitása. Az összes D-vitamin metabolit közül az  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$  mutatja a legerősebb VDR-affinitást, a többi metabolit nagyaságrendekkel gyengébb.

### 1.5.3.1. Pre-analitikai megfontolások

Mintatípusok és mintavételi edények: Szérum, valamint heparin- és EDTA-plazma használható, közülük a szérumot részesítjük előnyben. Az antikoagulánsok (EDTA, heparin, citrát) befolyásolhatják a mérési eredményeket, különösen az immunoassay rendszerekben. Még a szérum esetében is néha számolnunk kell a mátrix befolyásoló hatásával pl. a HPLC és az LC-MS/MS módszerek esetében.

A vizsgálati minták stabilitása: A minta-stabilitás adatai epidemiológiai tanulmányokból származik, ahol a meghatározás nem a mintavétel napján történik. A vizsgálatok szerint a  $25\text{OHD}$  plazmában és szérumban is stabil szobahőn ( $24^\circ\text{C}$ ),  $4^\circ\text{C}$ -on, vagy fagyasztva egyaránt addig, amíg a kötőfehérjétől el nem választják. A  $25\text{OHD}$  szérumban több napig tárolható szobahőmérsékleten számottevő koncentrációcsökkenés nélkül és akár 3 évig  $-20^\circ\text{C}$ -on. Ismételt fagyasztás-kiolvastás hatására sem változik lényegesen a  $25\text{OHD}$  szintje. Az előkezelt mintákat, melyekben a D-vitamin levált a kötőfehérjéről, fénytől elzártan kell tárolni  $< -70^\circ\text{C}$ -on.

Az évszakváltások hatása a  $25\text{OHD}$  szintekre: A vizsgált népességek többségében a napfény hatására képződő D-vitaminból keletkezik a  $25\text{OHD}$ , ezért a D-vitamin vérszintek közvetlenül függenek a napsugár UVB-hatásától. Számos környezeti tényező befolyásolja az UVB-sugárzás hatékonyságát a bőrben zajló 7-DHC - D3-vitamin (kolekalciferol) konverzióra, mint a földrajzi szélesség, a tengerszint feletti magasság, az évszakok, és a helyi időjárási tényezők. Ezek a befolyásoló hatások küszöbérték alá szoríthatják az UVB sugárzás erősségét, amikor a konverzió meg sem indul, a küszöbérték felett pedig a sugárerősség arányában fokozódik az átalakulás. Nagyrészt ezek a hatások idézik elő a  $25\text{OHD}$  szintek évszaki változásait, amelyet a vizsgált népesség földrajzi lakóhelye is befolyásol.

Életkor: Az életkor hatással van a kalcium- és D-vitamin anyagcserére. A kalcium felszívódás hatékonysága az öregedés folyamán csökken. A belek fokozódó kalciumfelszívó képessége a keringő  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  hatására a kor előrehaladtával gyengül, mintegy rezisztencia alakul ki. Az öregedő bőr kevesebb D-vitaint képes termelni, mint a fiataloké. Az öregedő emberek fokozottan otthonülők, a lakáson kívüli aktivitásuk is egyre szegényesebb, emiatt a napfény-kitettségük is csökken.

Testtömeg-index (BMI): Következtesen igazolták az összefüggést a magas BMI értékek és az alacsonyabb 25OHD koncentrációk között. A D-vitamin zsírolékony molekula, ez vezetett a feltételezéshez, miszerint a zsírszövetben raktározott D-vitamin biológiai hozzáférhetősége rosszabb.

Nem: Egyes tanulmányok magasabb 25OHD vérszinteket írtak le férfiakban, mint nőkben függetlenül az életkor, évszak, és rassz hatásaitól. A nemek közti különböző testszír-hányad és -eloszlás magyarázhatja a különbséget.

Életmód: A napszaktól, az expozíció időtartamától, évszaktól, földrajzi szélességtől és bőrpigmentációtól függően a napozás (fedetlen karok, vagy lábak, nyak - napi 10-30 percig) elegendő endogén D3-vitamin képződését eredményezheti. A szabadidős tevékenység általában több napfénykitettséget is jelent, de az öltözködési szokások, az öltözék jellege is befolyásolja az inszoláció mértékét, következményképpen a 25OHD-szinteket.

Etnikai csoportok sajátosságai: Bár a legtöbb tanulmányt kaukázusi rasszba tartozó személyeken végeztek, azt is igazolták már, hogy a 25OHD vérszintek különböznek etnikai csoportok és bőrszín szerint. A sötétebb bőrszín csökkenti az UV-sugárzás hatékonyságát és növeli a D-vitaminhiány kialakulásának kockázatát.

Máj- és vesebetegségek hatásai: A máj és a vesék a legfontosabb szervek a D-vitamin anyagcserében. A szérum 25OHD koncentrációja fordított arányban áll a májbetegség súlyosságával. A vesék nélkülözhetetlenek nemcsak a 25OHD konverziójához  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -vé, hanem a 25OHD reabszorpciójához is a vese-ultrafiltrátumból. Normális vesefunkció a kalcitriol endokrin hatásainak fenntartásában sem nélkülözhető. Ez a funkció hozzájárul a VDR-állomány megtartásához a célszövetekben, mivel védi a receptort a kötődés okozta leépüléstől. Krónikus vesebetegségben kevesebb  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$  képződik. Úgy tűnik, az  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$  hiány fő oka a 25OHD megzavart felvétele a vesék által. A csökkent veseműködés és a kalcitriol hiány vezet a hipokalcémiához és ezek a másodlagos hiperparatireózis (SHPT) létrejöttének kulcsfontosságú okai.

Szisztémás gyulladási válasz (SIR): A 25OHD-vitamint gyakran kapcsolják akut és krónikus gyulladási betegségekhez, negatív akut fázis reaktánsként.

Terhesség: Számos tanulmány igazolt alacsony 25OHD szinteket várandós nőkben. Eredményeiből következtethető, hogy a várandósok csökkent D-vitamin szintjei a pre-eklampszia, gesztációs diabetes és más terhességi kórforma emelkedett kockázatával járnak. A vizsgálati eredmények ellentmondásait véleményem szerint nemcsak a vizsgálatok felépítésének módszertani problémái, hanem a 25OHD mérési eltérő módszerei is okozhatják. Várandósokban a VDBP vérszint emelkedik, de immunoassay méréssel a vérszinteket a várt érték alá mérjük. Ennek oka, hogy a 25OHD csak részlegesen válik el a kötőfehérjétől. A HPLC, vagy az LC-

MS/MS módszer esetén a 25OHD elválása a kötőfehéjtől teljesebb. Ezek az analitikai problémák jelentős variabilitást okozhatnak a vérszintek mérési eredményeiben.

Egyetlen nukleotid polimorfizmusok (SNP-k): A kandidáns gén és GWAS tanulmányok igazolták, hogy egyes SNP-k beavatkoznak a D-vitamin anyagcsere útvonalába (pl. a *CYP2R1*, *CYP27B1*, *CYP24A1*, *DHCR7*, a *VDR* és a *GC*) és befolyásolják a D-vitamin szinteket. Az SNP-változatok jelenléte nem tűnik jelentősnek klinikai szempontból a mindennapi gyakorlatban, mivel a D-vitamin metabolitok mérésének laboratóriumi módszerfüggő variáciája 10% körüli.

## 1.5.4. A 25OHD vérszint mérése

### 1.5.4.1. Klinikai érvényesség

A 25OHD vérszintek mérését két okból végezzük:

- [1] A D-vitamin ellátottság mértékének meghatározására, és
- [2] Hiányállapot miatti pótlás hatékonyságának ellenőrzésére.

A 25OHD koncentrációja a 25-200 nmol/L tartományba esik, ami 1000-szerese az  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -nek (50-150 pmol/L). Számos klinikai tanulmány mutatott ki összefüggést a 25OHD vérszintek és jelentős élettani/klinikai események között, mint a csontok mineralizációja, a törési kockázat, némely rákok, a cukorbetegség és szív-érrendszeri káros események. Randomizált kontrollált klinikai tanulmányok és meta-analízisek pozitív dózis-válasz összefüggést igazoltak a D-vitamin adás és a törésmegelőző hatás között, részben az elesés kockázatának csökkenése következtében.

A 25OHD felezési ideje hosszú (2-3 hét) az  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -hez viszonyítva, amelynek szintje 4-6 óra alatt feleződik, ezért az előbbi koncentrációja keveset ingadozik rövid időperiódusok alatt.

### 1.5.4.2. Mérési módszerek

A 25OHD vérszintje különböző módszerekkel mérhető, közöttük a leggyakrabban alkalmazott immunoassay, a protein-kötő assay, HPLC-UV, vagy az LC-MS/MS.

### 1.5.4.3 A 25OHD mérési eljárások analitikai variabilitása és módszertani egységesítése

A szérum teljes 25OHD szintje minősíti a D-vitamin ellátottságot a fentebb leírtak szerint. A klinikai szakmai útmutatókban különböző mérési határértékekhez köti a *deficiens* (elégtelen), az *insufficiens* (hiányos) és *kielégítő* ellátottságot, jelentősen ellentmondásos légkört teremtve ebben a témakörben. A módszerek egységesítésének (standardizációjának) hiánya lehet a hibák fő oka. Lehetetlenné teszi az összegyűjtött publikált kutatási eredmények alapján releváns



határértékek kijelölését megegyezéses alapon. Előrelépés történt azonban ezen a téren, amikor létrejött 2010-ben a "D-vitamin egységesítési program" (Vitamin D Standardization Program, VDSP) az Egyesült Államok Nemzeti Egészségügyi Hatóságának (National Institutes of Health – NIH) intézetei, a National Institute of Standards and Technology (NIST), a Centers for Disease Control and Prevention (CDC), a Genti Egyetem (Belgium), a Klinikai Kémia Amerikai Társasága (AACCC), az IFCC, Ausztrália, az Amerikai Egyesült Államok, az Egyesült Királyság, Írország, Kanada, a Koreai Köztársaság, Mexikó és Németország nemzeti egészségügyi és élelmiszerellenőrzési hatóságainak együttműködésével. A közösen kidolgozott referencia mérési módszer (Reference Measurement Procedure - RMP) leíró alapidokumentuma elérhető. A NIST által elsőként kifejlesztett RMP az ID-LC-MS/MS technológián alapul a 25OHD2 és 25OHD3 mérésére emberi vérszérumban, amelyet elismer a Laboratóriumi Medicina Kimutathatósági Közös Bizottsága (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine). Később Stepman és mtsai (Genti Egyetem, Belgium) is kifejlesztettek egy ID-LC-MS/MS módszert a 25OHD2 és 25OHD3 meghatározására, amelyet szintén elfogadott RMP-nek a JCTLM. Végül a CDC is létrehozott egy ID-LC-MS/MS eljárást, amelyet szintén elismert a JCTLM a 25OHD mérésére. Jelenleg egyedül ez a három módszer rendelkezik a JCTLM szakmai szervezet RMP-ként elismerő támogatásával a 25OHD2 és 25OHD3 meghatározására. Mivel az egységes mérési módszertan nem nélkülözhető a kritikus határértékek nemzetközi érvényű meghatározásához az *elégtelen, hiányos és kielégítő* ellátottság között, a US Centers for Disease Control (CDC) elindított egy nemzetközi D-vitamin mérés módszeregyesítő és tanúsítvány programot (Vitamin D Standardization Certification Program – VDSCP). Ennek a programnak köszönhetően rövid időn belül látványosan megemelkedett a standardizált 25OHD mérések száma.

Mindezek ellenére a mai napig számos immunoassay alkalmazásakor találkozunk a 25OHD mérések különböző minőségi problémáival. Ezen meghatározásokban a páciens egészségi állapotával, vagy az analitikumot tartalmazó mátrix tulajdonságaival kapcsolatos nem várt eltéréseket láthatunk, pl. várandós nők, sürgősségi osztály betegek, hemodialízis program résztvevői, csontritkulásos betegek, vagy májelégtelenségben szenvedők vizsgálati mintáiban. Az ilyen páciensek szérummintái másként viselkednek immunoassay, mint LC-MS/MS mérési rendszerben. Ennek a különbségnek egyik oka a mérés D-vitamin kötőfehérje (DBP)-függősége az immunoassay közegben. Míg az LC-MS/MS módszerek szét tudják választani a 25OHD3 és 25OHD2 molekulákat, immunoassay esetében a 25OHD3 és 25OHD2 iránt különböző affinitású ellenanyagokat alkalmazunk, emiatt gyakran felül-, vagy alulmérjük a 25OHD szinteket.

A felsorolt körülmények, belevéve a 25OHD3 és a 25OHD2 iránti eltérő affinitást, a keresztreakciót, a mátrix-, vagy páciens-függő biológiai változatosságot, megnehezítik a jelenleg

forgalomban lévő immunoassay reagensek használatának egységesítését és velük kellően pontos mérések végzését.

## **1.5.5. D-vitamin és a mikrobiális fertőzések csökkentésének mechanizmusai**

A D-vitamin több mechanizmus segítségével csökkenti a mikrobiális fertőzés és következményes halálozás kockázatát. Egy áttekintő közlés a D-vitamin védőhatását három mechanizmussal magyarázza: fizikai barrier erősítésével, természetes sejtes immunitással és adaptív immunitással. A D-vitamin segíti fenntartani a sejtek tartós, a hézagos (gap), és tapadásos kapcsolatait. Számos közlemény tárgyalja, miként zavarják meg a vírusok a sejtkapcsolatok integritását, ezáltal segítve a vírusok és egyéb fertőző kórozők testszövetekbe hatolását.

A D-vitamin fokozza a veleszületett sejtes immunitást részben antimikrobiális peptidok, köztük a humán cathelicidin, LL-37, valamint a defenzinek képződésének 1,25 dihidroxivitamin D általi beindításával.

A D-vitamin fokozza a sejtes immunitást is, részben a veleszületett immunrendszerben támadt citokin-vihar csillapításával. A veleszületett immunrendszer mind pro-inflammatorikus, mind anti-inflammatorikus citokineket termel válaszul vírusos és bakteriális fertőzésekre, amint azt COVID-19 fertőzött betegekben megfigyelték. A D-vitamin csökkenteni képes a gyulladásfokozó Th1 citokinek – pl. a tumor necrosis factor és az interferon kifejeződését. D-vitamin adása csökkentette a gyulladásfokozó citokinek képződését és növelte a gyulladásellenes citokinek expresszióját a makrofágok által.

A D-vitamin az adaptív immunitás egyik modulátora; a 25OHD3 vitamin csökkenti a Th1 sejtek által közvetített válaszreakciókat, elsődlegesen a gyulladásozó citokin IL-2 és interferon gamma (INF $\gamma$ ) termelésének elnyomásával. Továbbá az 1,25(OH)2D3 fokozza a citokintermelést a Th2 sejtek által, ami fokozza a Th1 sejtek közvetett elnyomását – kiegészítve számos más sejt típus ez irányú közös akcióját. A szérumban 25OHD vérszintek az életkor előrehaladtával csökkennek, ez a figyelemre méltó jelenség összefüggésre utalhat, mivel a COVID-19 fertőzöttek halálozási rátája is növekszik az életkorral.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. A D-vitaminhiányos állapot gyakoriságának, évszaki változásainak és csontanyagcsere-paraméterekkel való kapcsolatának vizsgálata menopauza utáni nőkben és 50 évesnél idősebb férfiakban.
2. A szérum szklerosztin, oszteoprotegerin és a nukleáris  $\alpha\beta$ -faktor ligand receptor-aktivátor (RANKL) vérszintek vizsgálata és kapcsolatuk elemzése az életkorral, cisztatin C szintekkel és a csontanyagcserével 50 évnél idősebb férfiakban.
3. A hormonszintek és a csontforgalmi-marker-változások elemzése nőkben várandósság és laktáció alatt.
4. A jelenleg forgalomban lévő PINP és  $\beta$ -CTx vértesztekkel nemzetközi együttműködésben végzett tanulmányok eredményeinek összehasonlítása és érvelés harmonizációjuk mellett.
5. A transzdermális ösztrogén bevitel csontanyagcsere-hatásainak vizsgálata posztmenopauzális szisztémás lupus erythematosus (SLE)-betegekben.
6. A D-hipovitaminózis prevalenciájának meghatározása és a csontanyagcsere jellemző folyamatainak elemzése 2. típusú cukorbetegségben és arthritis psoriatica-betegekben.
7. A 25-hidroxivitamin D meghatározások standardizációja.
8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció elemzése.
9. A diéta, földrajzi szélesség és 25-hidroxivitamin D koncentrációk kapcsolatának meghatározása Közép-Kelet Európában.
10. Bizonyítékok bemutatása a D-vitamin adás hatékonyságáról a COVID-19 fertőzések és halálozás kockázatának csökkentésében.

3. VIZSGÁLATI SZEMÉLYEK ÉS MÓDSZEREK

**3.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány**

**3.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmánya**

Debrecenben élő posztmenopauzális nők vettek részt a helyi intézményi kutatásaitikai bizottság által engedélyezett tanulmányban. Összesen 319 személy írta alá felvilágosítás után a részvételbe beleegyező nyilatkozatot, a besorolási és kizárási kritériumoknak megfelelően.

A résztvevőket Oszteoporózis Centrumunkba első szűrővizsgálatra érkezésükkor hívtuk meg a tanulmányba érkezésük sorrendjében. Beutalásuk csak posztmenopauzális állapotok miatt történt a küldő intézményekből, emiatt véletlen népességi minta tagjainak tekintettük őket.

Besorolási szempontok voltak: posztmenopauzális állapot, járóképesség, otthonában élő debreceni lakos, aki egészségesnek vallotta magát.

Kizáró körülmények: ismert, meglévő csontanyagcsere-betegség, súlyos máj, vagy vesebetegség, csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek szedése (köztük kalcium, D-vitamin-pótlás) és előzményi oszteoporotikus törés.

Anamnézis felvétel, klinikai vizsgálat után alap laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk. Minden résztvevőnek normális szérumszintű kalcium- és foszfor-értékei voltak. Felkészített nővér hitelesített kérdőívvel mérte fel a napi kalcium-felvételt.

Kettős energiájú röntgensugár-elnyelődésen alapuló (DXA) vizsgálatot végeztünk LUNAR Prodigy készülékkel az ágyéki gerincen (LS) az L2-L4 csigolyákon és a femurnyakon (FN).

Éhomi vérmintákat vettünk további laboratóriumi vizsgálatokra. A szérumszintű 25OHD és intakt PTH mérési módszere radioimmunoassay ill. immunoradiometriás assay volt. A szérumszintű OC és  $\beta$ -CTx mérésre elektrokemilumineszcens immunoassay-vel történt. A D-hipovitaminóziást  $<50$  nmol/L értékek esetén mondtuk ki Lips ajánlása alapján. A napsütéses órák számát a Magyar Meteorológiai Szolgálattól kaptuk meg.

A mérési adatok statisztikai értékelésekor átlag, medián, terjedelem és szórás (SD) értékeket adtam meg az adathalmaz jellegétől függően. A Kolmogorov-Smirnov tesztet használtuk az eloszlás normalitásának vizsgálatára. A Mann-Whitney U-teszt szolgálta két mérési csoport adatainak összehasonlítására. Az egy-utas varianciaanalízist (ANOVA) használtuk a csoportösszehasonlításra. A változók közötti korrelációt regressziós analízissel teszteltük. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük statisztikailag jelentősnek. A számításokat a Statistical Package for Social Sciences (SPSS) statisztikai programmal végeztük.

### **3.1.2. A HunMen tanulmány**

Az illetékes kutatásaitikai bizottság által engedélyezett tanulmányba 229 önkéntes, Debrecenben élő >50 éves, egészségesnek tekinthető férfit soroltunk be véletlenszerű kiválasztással.

Kizáró körülmény volt ismert csontanyagcsere-rendellenesség, máj-, vagy vesebetegség, valamint a csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek használata.

Részletes anamnézist vettünk fel, majd vért vettünk éjszakai koplálás után. Az összes résztvevő teljes kalcium- és foszfor szintje a referenciahatárokon belül volt. Képzett szakdolgozók validált kérdőívekkel mérték fel az étrendi kalciumfelvételt; a törési kockázatot a FRAX programmal számítottuk.

A DXA alapú BMD mérést LUNAR Prodigy készülékkel végeztük az LS és FN területeken.

A plazma 25OHD méréseket Jasco HPLC rendszerrel és Bio-Rad reagens egységcsomagokkal végeztük. A szérumban PTH, OC,  $\beta$ -CTx és PINP méréseket elektrokémilumineszcens immunoassay technikával hajtottuk végre.

A tanulmány időtartama alatti napsugaras órák számát Debrecen környékére az Országos Meteorológiai Szolgálat adta meg.

Statisztikai adataink a mérési adathalmazok jellegének megfelelően középértéket, a mért adatok határértékeit, és a szórást (SD) adják meg. Az adatok eloszlásának normalitását a Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük. A vizsgált paraméterek értékeinek eloszlásától függően a Mann-Whitney U tesztet, vagy a kétmintás t-próbát használtuk két csoport összehasonlításakor. Csoport-összehasonlításakor az egy-utas variancia-analízist (ANOVA) alkalmaztuk. A változók közötti korrelációt regressziós analízissel vizsgáltuk. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Minden statisztikai elemzést a PASW statisztikai csomaggal végeztük.

## **3.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány**

### **3.2.1. Szklerosztin tanulmány**

A HunMen tanulmányban gyűjtött éhomi szérummintákat (n=194) használtuk a szklerosztin mérésekre.

A szérumban szklerosztint enzim-kötésű immunoszorbens assay, a plazma cisztatin C szinteket partikulumban részecske-erősítésű nefelometriás immunoassay módszerrel mértük. A szérumban kreatininszintet 2. generációs Creatinine Jaffe módszerrel mértük a COBAS c111 rendszer alkalmazásával. A vesebetegek 4-változós módosított diétájára (MDRD) alkalmazott egyenletet használtuk a becsült glomeruláris filtrációs ráta (e-GFR) kiszámolására.

A Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztuk a mérési adatok eloszlásának vizsgálatára. A nem-normál eloszlást mutató adatokat logaritmikus transzformációval normalizáltuk. A korrelációt Pearson korrelációs elemzéssel teszteltük. További kapcsolatokat lineáris regressziós elemzéssel vizsgáltunk. A módosító hatásokat többváltozós variancia analízissel elemeztük. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük a statisztikailag szignifikánsnak. Az elemzéseket az SPSS Statistics csomaggal végeztük.

### **3.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány**

A HunMen keresztmetszeti obszervációs tanulmány résztvevőitől vett 194 éhomi szérumminta vizsgálatát végeztük el. A teljes OPG és sRANKL szintek mérését enzim immunoassay alkalmazásával, az ösztradiol (E2), tesztoszteron (T), szexhormon-kötő globulin (SHBG) szinteket elektrokemilumineszcens immunoassay módszerrel mértük.

A szabad ösztradiol-index (FEI) és a szabad tesztoszteron-index (FTI) számítása az összes  $17\beta$ -ösztradiol és az SHBG koncentráció hányadosából, illetve az összes tesztoszteron és az SHBG koncentráció hányadosából történt. Kiszámoltuk még az eGFR értékét a krónikus vesebetegség epidemiológiai kollaboráció (CKD-EPI) által használt kreatinin-cisztatin C egyenlettel.

A Kolmogorov-Smirnov tesztel vizsgáltuk a mérési adatok eloszlását. A paraméterek többsége nem-normál eloszlásúnak bizonyult, ezek elemzéséhez a Mann-Whitney U-tesztjét használtuk. A korrelációs elemzésekhez a Spearman rho-tesztet alkalmaztuk. Az összefüggések tesztelését lineáris regressziós módszerrel vizsgáltuk, a nem-normál eloszlású adatokat esetenként logaritmikus transzformáció után. Az életkor befolyásoló hatásának csökkentésére a medián életkor alapján két alcsoportot képeztünk. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az összes statisztikai elemzést az SPSS Statistics programcsomaggal végeztük.

### **3.3. A terhességi és laktációs tanulmány**

Első kiviselt terhességük alatt és szülésük utáni 12 hónapig tartó időszakban vizsgáltunk 20 egészséges nőt. Az önkéntes résztvevők besoroláskor még nem voltak várandósok, de 3 hónapon belül terhességet terveztek. A besoroltak terminusban szültek és csecsemőjük szoptatását legalább 12 hónapig tervezték. A feltételeknek megfelelő első 20 nő került a tanulmányba. A vizsgálati időszak tervezett időpontjaiban csont ásványianyag-denzitás (BMD) mérése (várandós állapotban csak az alkaron) és mintavétel történt laboratóriumi vizsgálatokra. A tanulmány kizárási kritériumai voltak az előzményi infertilitás, jelen terhességben magasvérnyomás,

gesztációs diabétesz, koraszülés, ikerterhesség, előzményi endokrin-, máj-, vese-, szívbetegség, valamint csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek szedése, kivéve a vitamin készítményeket.

A laktációs időszaknak becsléssel azt tekintettük, amelyben az anyatej adta a csecsemő energiaszükségletének kétharmadát. Reggeli vér- és vizeletmintákat gyűjtöttünk laboratóriumi vizsgálatra (i) a fogamzás előtti 3 hónapon belül (alapminta- B), (ii) a gesztáció 22. és 24. hete között (G), szülés után 6 napon belül (PP), hat hónappal utána (PP6), és 12 hónappal szülés után (PP12).

Vérmintákat vettünk a szérum 25OHD mérésére  $^{125}\text{I}$  RIA reagenscsomaggal, a PTH-t IRMA módszerrel, a BSAP-t a 9-ALKPHASE-B módszerrel, OC-t  $^{125}\text{I}$ -osteocalcin RIA kittel, a PICP-t  $^{125}\text{I}$ -RIA kittel, a szérum kalciumot, foszfátot és kreatinint az akkor szokványos módszerekkel mértük. Vizeletből deoxipiridinolin (D-pyr) keresztötéseket és kalcium szinteket határoztunk meg.

Léfró statisztikai adatokat számoltunk (átlag, szórás, első és harmadik tercilis és értéktartomány) a folyamatos változókra. Variancia analízist végeztünk a vizsgálati idő tartamának különböző pontjain kapott mérési adatokkal. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az elemzésekhez a PC-SAS (Statistical Analysis System) for Windows programcsomagját alkalmaztuk.

#### **3.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata**

Az IFCC-BM bizottság által szervezett multicentrikus tanulmányhoz négy oszteoporózis centrumban (Athén, Görögország; Koppenhága, Dánia; Liège, Belgium és Sheffield, Egyesült Királyság) gyűjtött, 796 személytől vett szérum- és EDTA-plazma mintákat használtunk. A mintákat duplikátumban elemeztük a rendelkezésre álló rutin klinikai laboratóriumi módszerekkel a gyártók használati utasításai szerint.

A PINP mérési egységcsomagokat gyártó cégek (IDS, Roche és Orion Diagnostica) reagenseket és kalibrátorokat bocsájtottak a résztvevő laboratóriumok számára. Az összes reagens ugyanazon LOT-ból származott és ugyanazon kalibrátor használata mellett történtek a mérések (a RIA kivételével). A Roche reagensek alkalmazása mindegyik laboratóriumban a cobas e411 analízátorral történt. Az összes laboratóriumnak megfelelő előzetes gyakorlata volt ezekkel a módszerekkel, kivéve az Orion Diagnostica RIA-t, amelyet csak a belga és dán laboratóriumban használtak.

A PINP szérum- és plazmamintákban mért értékeinek, valamint a különböző módszerekkel kapott eredmények egyezőségének, illetve az eltérések okainak vizsgálatára a következő statisztikai módszereket használtuk: a Passing-Bablok regresszió, a Bland-Altman

plot, a V- alakú modell szerinti értékelés, a konkordancia korrelációs koefficiens számítása, valamint egy generalizált lineáris statisztikai modell alkalmazása.

### 3.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány

A saját kezdeményezésű, az intézményi kutatásaitikai bizottság által engedélyezett tanulmányba posztmenopauzális SLE-beteg nőket (életkor-tartomány 42-70 év, medián 55 év; n=32) soroltunk kezelt, illetve a placebo-csoportba. A kezelt páciensek véletlen kiválasztással napi 50 µg 17β-ösztradiolt kibocsátó transzdermális tapasz (Dermestril, Rottapharm, Olaszország), a placebo-csoport a gyártó által készített hatóanyag nélküli tapaszt kapott. A résztvevők és a tanulmány személyzete nem ismerte a résztvevők csoport-beosztását. Az aktív és placebo tapaszokat a gyártó randomizált blokkokban, bennük növekvő sorszámmal bocsátotta rendelkezésünkre, kiosztásuk a számok sorrendjében történt.

A tapaszon kívül mindkét csoport tagjai napi 5mg orális medroxiprogesztéron-acetátot (Provera, Pharmacia & Upjohn, Mich., USA), 500 mg kalcium karbonátot és 400 NE D3-vitamint kaptak.

Beválasztási kritérium volt az SLE diagnózis (az American College of Rheumatology – ACR SLE kritériumai szerint); több, mint 3 éve fennálló menopauza, vagy az FSH>40 NE/L és E2<75 pmol/L, mint endokrin kritériumok, valamint ösztrogénhiányos panaszok megléte. A BMD T-score<1,0 az L1-L4 csigolyákon, vagy a bal combnyakon; a csontanyagcsere, vagy kalcium-háztartás zavarának hiánya. Kizárási kritérium volt a tromboembólia fokozott kockázata (aktivált protein C [APC] – rezisztencia; az V. faktor Leiden mutációja; protein C, protein S, antitrombin III hiányosságai; lupusz antikoaguláns jelenléte; anti-kardiolipin és anti-β2-glikoprotein antitestek; alacsony plazminogén szint; protrombin polimorfizmus); súlyos vesebetegség; lupus nephritis jelenléte (eGFR ≤40 ml/min); hysterectomia; ismeretlen eredetű hüvelyi vérzés; ösztrogén-függő betegség (emlőrák, méhtest-rák); hipertónia, előzményi mélyvénás trombózis, tüdőembólia és miokardiális, vagy agyi tromboembólia.

Laborvizsgálatokat a kezelés kezdete előtt, 0 hónapban végeztünk, ezt követően 3 (M3), 6 (M6), 9 (M9) és 12 hónap (M12) időpontban. Csontsűrűség (BMD) méréseket Hologic QDR4500A típusú denzitométerrel (Waltham, Mass., USA) végeztük a tanulmány “0”, “M6” és “M12” időpontjaiban. Mérési helyek az LS, az FN és a teljes csípő (TH) - voltak.

A reggeli vétellel nyert vérmintákból szérum OC, a β-CTx és a 17β-ösztradiol szinteket a tanulmány indulásakor (“0” időpont), majd M3, M6, M9 és az M12 vizitek időpontjában mértük. Az összes paraméter mérésére elektrokemilumineszcens immunoassay módszert alkalmaztunk.



A résztvevők SLE betegség jellemzői adatait a gondozó intézet dokumentumaiból anonimizáltan nyertük. Ezek az adatok: a betegség kezdetének időpontja és ebből számított időtartama, citosztatikus kezelésük fajtája és időtartama (pl. metotrexát, ciklofoszamid, azathioprin), napi kortikoszteroid adag prednizolon egyenértékben (mg), a kumulatív teljes szteroid mennyiség (gramm), az SLE betegségaktivitási index (SLEDAI), valamint a Systemic Lupus International Collaborating Clinics / ACR károsodási index (SLICC) kalkulált értéke. A Debreceni Regionális Immunológiai Centrum 3 havonkénti rendszeres rutin, vagy rendkívüli ellenőrző vizsgálatainak dokumentumai szolgálták forrásul tanulmányunk résztvevőinek betegség-történetéről, benne a betegség-aktivitásról és komplikációkról.

Ezeket a viziteken általános fizikai vizsgálat, vese- és májfunkciós laboratóriumi tesztek, a kalcium homeosztázis vizsgálata, APC rezisztencia vizsgálata, (auto)immun laborvizsgálatok (lupus antikoaguláns, antikardiolipin, anti-b2-glikoprotein ellenanyagok, CH50 aktivitás; C3, C4 és anti-DNA antitest szintek) történtek. A tanulmány időszaka alatt a SLEDAI pontszám 2-nél nagyobb növekedését a betegség aktiválódásaként értékeltük, ami az adott résztvevő kizárását vonta maga után. Szabványos nőgyógyászati vizsgálatot és endometrium ultrasonográfiát végeztünk induláskor és az M6, majd M12 vizit során. Emlővizsgálat, mammográfia a “0” és M12-es vizitkor történt.

Leíró statisztikai számítást végeztünk (átlag, szórás, mérési értéktartomány) a folyamatos változókon. A vizsgált paramétereket egymással hasonlítottuk egy adott csoporton belül és két csoport adatai között. Variancia analízis az ismételt mérési csoportban a mérési értékek változásának jellemzésére történt az idő függvényében. A független minták t-tesztjét alkalmaztuk a csoportok közötti összehasonlításra. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük a statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai elemzéseket a SPSS programcsomag, Windows 2,5 verziójával végeztük. Minden résztvevő mérési adatainak elemzését elvégeztük *intention-to-treat* alapon és külön a valóban kezelést kapott (*on-treatment*) személyeken is.

### **3.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya**

#### **3.6.1. A férfi T2DM tanulmány**

A Debreceni Egyetem Egészségtudományi Centrum 1.sz. Belgyógyászati Klinikája Diabétesz Szakrendelésén gondozott, rendszeresen visszatérő 50 évnél idősebb férfiakat hívtunk meg a tanulmányba, akiket korábban nem vizsgáltak csontritkulás gyanújával. A toborzás 2009. szeptember és 2010. szeptemberig tartott. A résztvevők tanulmányba sorolását, valamint az összes vele kapcsolatos tevékenységet felvilágosítás utáni beleegyező nyilatkozat aláírása után végeztük.

Képzett tanulmányi nővér töltötte ki a napi kalciumfelvétel validált kérdőívét és az országra szabott FRAX- számítási listát. A vérmintákat éjszakai koplalás után reggel vettük a 25OHD, PTH, OC,  $\beta$ -CTx és PINP mérésére. A BMD DXA alapuló denzitométerrel mértük. A mérések helye az LS és az FN volt.

A plazma 25OHD analízist nagynyomású folyadék-kromatográfiával végeztük. A szérum PTH, OC,  $\beta$ -CTx és PINP méréseket elektrolumineszcens immunoassay módszerrel hajtottuk végre. D-hipovitaminózisnak a 25OHD szintek  $<75$  nmol/L koncentrációit tekintettük Dawson-Hughes javaslata szerint.

A 2-es típusú diabeteszes férfiak mérési adatait kor szerint illesztett egészséges férfiakéhoz hasonlítottuk, akik az általunk folytatott HunMen tanulmányrésztvevői is voltak.

Az adatok leíró statisztikai elemzését alkalmas módszerekkel végeztük, köztük az átlag, mért értéktartomány (range), szórás (SD) szerepel. Az adatok eloszlását, a normalitást a Kolmogorov-Smirnov teszttel minősítettük. A paraméterek eloszlásától függően a páros t-próbát, vagy a Wilcoxon előjeles rang-tesztet használtuk kor és nem szerint illesztett párokon és a Mann-Whitney U-tesztet, vagy a kétmintás t-tesztet az inzulinkezelt és nem inzulinkezelt 2-es típusú cukorbetegek összehasonlítására. A McNemar próbát alkalmaztuk az adatok páronkénti elemzésére; egyéb esetekben a chi-négyzet teszttel hasonlítottuk össze a kategórikus változókat. A  $p < 0,05$  értéket minősítettem statisztikailag szignifikánsnak. Az összes elemzést az SPSS Statistics program 19,0 verziójával végeztük.

### **3.6.2. A férfi PsA tanulmány**

Az illetékes intézményi kutatásaitikai bizottság által engedélyezett tanulmányba a Debreceni Egyetem Orvosi Fakultás Reumatológiai Tanszék járóbeteg-gondozójában pszoriaticus bőrtüneteket és egyidejű ízületi gyulladáshoz elváltozásokat mutató pácienseket hívtunk meg alkalmassági felmérésre a besoroláshoz. Toborzásuk 2009. július és 2014. július hónap között folyt.

Éjszakai koplalás utáni reggelen történt vérvétel 25OHD, PTH, OC,  $\beta$ -CTx és PINP mérésére. LUNAR Prodigy DXA denzitométerrel mértük az ásványianyag-sűrűséget. A BMD-t az LS és FN területeken mértük. Egészséges, illesztett kontrollszemélyektől ugyanazon évszakban vettünk vérmintákat a szezonról függő változatosság elkerülésére.

Plazma 25OHD méréseket HPLC-vel végeztük. A szérum PTH, OC,  $\beta$ -CTx és PINP méréseket elektrokemilumineszcens immunoassay-vel végeztük. Dawson-Hughes javaslata szerint a 75 nmol/L alatti 25OHD értéket tekintettük D hipovitaminózisnak.

A betegség súlyosságát a PsA csoportban a DAS28 aktivitási mutatóval és a "psoriasis area and severity index" - PASI - segítségével értékeltük.

Az ízületi gyulladással járó pikkelysömörös férfiak mérési adatait kor, nem és évszak szerinti illesztéssel egészséges önkéntesek adataihoz hasonlítottuk. A kontrollszemélyek többségét a HunMen kohorszból hívtuk meg. A fiatalabbakhoz korban és nem szerint illesztett kontroll-párt a PsA betegek kísérői, családtagjai közül választottunk, akik egészségesnek tekinthetők, járóképesek, otthonukban éltek, nem estek a kizárási kritériumok hatálya alá. Kizárási kritérium volt meglévő csontanyagcsere-betegség, kóros máj- vagy veseműködés. A csontanyagcsere befolyásoló gyógyszerek szedése is kizárási ok volt, kivéve a kalcium és D-vitamin-pótlást.

Leíró statisztikai elemzést végeztünk a feltételek megléte esetén: középérték, átlag, mérési eredmények tartománya (range) és a szórás (SD). Az eloszlás normalitásának tesztelését a Kolmogorov-Szmirnov próbával végeztük. A paraméterek eloszlásától függően a páros t-próbát, vagy a Wilcoxon előjeles rang-tesztet a kor- és nem szerint illesztett párokon. A kategórikus változók összehasonlítására a  $\chi^2$  tesztet alkalmaztuk. A korrelációs elemzésekhez a Spearman-féle rang-korrelációt alkalmaztuk, a  $\rho$ -értéket meghatároztuk. Az elemzéseket az SPSS Statistics program 22.0 verziójával végeztük.

### **3.6.3. A PsA-pQCT tanulmány**

A Debreceni Egyetem Orvosi Fakultás Reumatológiai Tanszék Immunológiai járóbeteg-gondozójának beteganyagából 118 pácienset soroltunk be az intézményi kutatásaitka bizottság által engedélyezett tanulmányba 2017. szeptember és 2018. június között. Mindnyájukat PsA-val diagnosztizálták a Pszoriátikus Artritisz Klasszifikációs Kritériumai (CASPAR) szerint. Az ízületi gyulladással társult pikkelysömörös betegek adatait hasonlítottuk össze nem és kor szerint illesztett önkéntes személyekével. A kontrollcsoport önkéntes személyekből állt, akiket az ellátó intézet személyzetéből, valamint a PsA betegekkel együtt az ellenőrző vizsgálatokra érkező rokonai, kísérői közül toboroztunk. Az összes résztvevőt tájékoztattuk szóban és írásban a tanulmány céljáról és az elvégzendő vizsgálatokról, valamint jogaikról, ezt követően írott tájékoztató nyilatkozatban aláírásukkal fejezték ki részvételi szándékukat, beleegyezésüket. A kontrollcsoportba egészségesnek tekinthető, otthonukban élő személyek kerültek. Kizáró kritérium volt az ismert, meglévő csontanyagcsere-betegség, reumatológiai kórállapot, bármely rosszindulatú daganat, máj-, vagy vesebetegség.

Minden páciens fizikai vizsgálata és a betegség súlyosságának meghatározása megtörtént. Ez utóbbit a beteg perifériás (végtagi) érintettsége esetén a DAS28 pontszámmal

határoztuk meg, a gerincfolyamatok dominanciája esetén a BASDAI használatával, valamint megállapítottuk a PASI számértékét.

Éjszakai koplalás után reggel történt vérvétel OC, 25OHD, PTH,  $\beta$ -CTx és PINP mérésére. A szérum OC,  $\beta$ -CTx, PINP és PTH mérése elektrokemilumineszcens immunoassay-vel történt. A szérum 25OHD szinteket automata Liaison DiaSorin totál 25OHD CLIA módszerrel végeztünk. D-hipovitaminózinak a 75 nmol/L alatti 25OHD szinteket tekintettük. Vörösvérsejt-süllyedést a Westergren módszerrel mértük a DAS28 pontértékeléshez. A DXA méréseket LUNAR Prodigy denzitométerrel végeztük az LS és a bal FN területen a területi csontsűrűség (aBMD) meghatározásához.

Egy-szeletes perifériás kvantitatív komputertomográfiai (pQCT) vizsgálatokat végeztünk a bal kar ultradisztális rádiuszán Stratec XCT készülékkel. A csonttörési kockázatot képzett nővér által felvett adatokkal on-line elérhető ország-specifikus FRAX-programmal számoltuk ki.

Leíró statisztikai adatokat adtunk meg (medián és tartomány). Az adatok eloszlását normalitásra a Kolmogorov-Smirnov próbával vizsgáltuk. Wilcoxon előjeles rang-teszttel hasonlítottuk a kor és nem szerint illesztett párokat. A Spearman  $\rho$ -értéket korrelációs analízissel számoltuk. Az egyváltozós és a többváltozós regressziós analízist alkalmaztuk a paraméterek közötti korreláció és független asszociációk vizsgálatára. A regressziós analízisek során a DEXA módszerrel mért BMD, a pQCT és FRAX-értékek voltak a függő változók, a többiek pedig a független változók.  $\beta$  standardizált lineáris koefficienseket határoztunk meg, amelyek lineáris korrelációt mutattak. A B regressziós koefficiens független kapcsolatot jelzett a dependens és independens változók között a változások következtében. A  $p < 0,05$  jelezte a statisztikai szignifikanciát. Az összes elemzést az SPSS Statistics program 25.0 verziójával végeztük.

### **3.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya a HunMen kohorsz mintáin**

A DEQAS rendszer a D-vitamin mérések nemzetközi EQA módszere több, mint ezer laboratórium részvételével, és kiterjed az összes kereskedelmi forgalomban elérhető jelenleg használt 25OHD mérési eljárásra. Évente 4 DEQAS mérési kör történik, amelyben 5-5 környezeti hőmérsékletű mintát küldenek a résztvevőknek meghatározásra. A központi értékelés eredményeként megkapjuk az összes 25OHD mérési eredmény csonkolt átlagát: "All Laboratory Trimmed Mean - ALTM", valamint az általunk beküldött 5 minta eredményének %-os eltérését ettől. A csonkolás az összes mérési eredmény felső és alsó 5%-ának (összesen 10%-nak) eltávolítását jelenti az átlagszámítás előtt.

Beszámolóik szerint ALTM nagyon hasonló a National Institute of Standards and Technology (NIST) célértékhez, amelyet minden minta esetében mérünk a NIST RMP leírás szerint. A DEQAS közli a tesztminták NIST RMP mérési értékeit is, lehetővé téve a résztvevők számára, hogy ellenőrizni tudják méréseik pontosságát a NIST célértékekhez képest is. Ezáltal a célérték helyettesítheti a referencia-módszerrel kapott totál 25OHD (25OHD3+25OHD2) mérési eredményt.

Ebben a tanulmányban újra analizáltuk a HunMen kohorsz vérmintáit az automata DiaSorin totál 25OHD CLIA módszerrel. A HunMen kohorsz 2009-2010-beli mintáit eredetileg HPLC-vel analizáltuk.

Laboratóriumunk részt vesz a DEQAS programban és a HunMen minták újra-mérése, 2015 októberében a DEQAS tesztmintáinak mérésével egyidőben történt a Liaison DiaSorin automata készülékkel, azonos analitikai feltételekkel (pl. ugyanazon LOT számú reagensekkel) és ez biztosította a reanalízis eredmények megfeleléségét.

Végül a HunMen csoport 25OHD mintáinak mérési adatait lineáris regressziós egyenlettel korrigáltuk, amelyet a Liaison készülékkel mért 25OHD értékek és az 5 DEQAS tesztminta DEQAS NIST totál célértékek kapcsolatának elemzésével kaptunk.

### **3.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya**

Az Európai biológiai variancia tanulmány (European Biological Variation Study – EuBIVAS) hat laboratórium részvételével történt. A hat résztvevő európai laboratórium: Milánó, Pádova, Bergen, Madrid, Assen és Isztambul. A tanulmányba 105 személyt toboroztak.

A kizárások után végül 91 egészséges személy maradt a tanulmányban (38 férfi és 53 nő, 21-69 éves).

A résztvevőkről besorolási kérdőívet töltöttek ki életmódjukról és egészségi állapotukról. Minden laboratórium betartotta a tanulmányterv preanalitikai előírásait. Éhomi vénás vérvétel történt hetente 10 héten át a heti vizitek napján, azonos időpontban. Ugyanazon személytől vett számos mintából végzett vizsgálatok nagy statisztikai erővel magas minőségű adatokat eredményeztek az összetevőkről, a biológiai variancia szűk konfidencia-intervallumaival. Összesen 77 személy vett részt mind a 10 vérvételen, 10 személy 9-szer, 2 személy 8-szor, kettő pedig 7 alkalommal. Az összes laboratóriumban a levett K<sub>3</sub>-EDTA-plazma mintákat szárazjéggel fagyasztva a milánói San Raffaele Kórház gyűjtötte össze és tárolta -80°C-on, mielőtt szárazjégben Liège-be továbbították a Centre Hospitalier Universitaire

laboratóriumába, ahol a minták 25OHD koncentrációját egyszerre határozták meg 2020. májusában Fujirebio reagensekkel Lumipulse G1200 készülékkel.

A Klinikai Kémia és Laboratóriumi Medicina Európai Egyesületének Európai Biológiai Variancia Tanulmányi (EuBIVAS) munkacsoportjának ajánlása alapján a kivülesők adatok azonosítása és eltávolítása CV-transzformált adatokon történt a mérési CV ( $CV_A$ ; replika-egyedek között) homogenitásának becslését, a Bartlett-teszt alkalmazásával és a  $CV_1$  homogenitás-becslését a Cochran próbával végeztük. A CV értékeket log-transzformált adatokból számoltuk.

Megvizsgáltuk, hogy volt-e általános változási tendencia a vérszintekben a tanulmány időtartama alatt. Ennek során elvégeztük a 180 kettős mérés középpérték regressziós elemzését minden vérvételre vonatkozóan (1,2...10.) (a gyűjtött vérminták átlag-koncentrációja) szemben az egyes vérvételi időpont mintáival (1-10). A vizsgálati személyeket állandó állapotúnak tekintettük, ha a regressziós vonal 95%-os konfidencia-határai a zero értéket közrezárták.

BV adatértékek megállapítása a kivülesők kizárása után és a 10 vérvételt, valamint külön az első öt (április-májusi) és utolsó öt (május-júniusi) vérvétel adatainak trend-elemzését követően történt.

A 25OHD mérések átlagértékeit,  $CV_1$  és  $CV_G$  adatait a férfi és női alcsoportok között szignifikánsan különbözőnek tekintettük, ha a hozzájuk tartozó 95%-os CI intervallumok nem voltak átfedésben. Az adatelemzések Microsoft Excel 2010 és IBM SPSS programcsomagokkal történtek.

### **3.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról**

Az étrend és 25OHD ellátottság feltételezett kapcsolatának vizsgálatára étrendi kínálati- és 25OHD koncentráció-adatokat szereztünk be Közél-Kelet és Európa régióiból. Az étrendi kínálat magába foglalta a kalória felvételt (Kcal/személy/nap), az állati zsír, tojás, tengeri hal, hús (marha, birka, sertés, szárnyas baromfi), valamint belsőségek és tejtermékek mennyiségi tételeit az ENSZ Élelmiszer- és Mezőgazdasági Szervezetének (FAO) adattárából a vizsgálatra történő vérvétel évéből. Ezek az adatok azonban nem minden évben álltak rendelkezésre.

A szérumban 25OHD koncentrációk adatait többnyire a National Library of Medicine honlapjának (pubmed.gov) adatbázisából nyertük a „25-hydroxyvitamin D” és „vitamin D” kereső szóösszetétel és országnevek kombinációjával. Az egészségesnek tekintett nem várandós felnőtt népességből, nyári és a téli évszaktól származó mérési adatokat használtuk fel.

További adatokat kaptunk a 25OHD vérszintekről egy 19 európai országban folytatott klinikai vizsgálat anyagából, amelyben posztmenopauzális csonttrikulációs nők bazedoxifen

kezelésének eredményeit közzölték. A 25OHD koncentrációt a Covance Central Laboratory mérte DiaSorin 25OHD reagensekkel.

Az UVB dózisok abból a közleményből származnak, amely az UVB sugárdózis és a pancreas carcinoma incidenciájának kapcsolatát elemzi országonként. Az effektív UVB sugárexpozíció számolásának forrása a NASA adatbázisa volt, amely az atmoszféra külső határán mért napsugárzás mérésén alapult a szoláris dél időpontjában minden résztvevő ország tanulmányi centruma felett a téli napforduló napján. Így ezeket az UV-adatokat lényegében a földrajzi szélesség határozza meg az átlagos felhőtakartság figyelembevételével.

A lineáris regressziós analízist SigmaStat 4.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA) programcsomaggal végeztük.

### **3.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány**

A COVID-19, egyéb légúti fertőzések, valamint az influenza és a D-vitamin ellátottság feltételezett kapcsolatának vizsgálatára a pubmed.gov és a scholar.google.com publikációs adatbázisokból kerestünk releváns közleményeket az "influenza", "CoVs", "COVID-19", "pneumonia", "innate and adaptive immune response", "vitamin D", "25-hydroxyvitamin D", "parathyroid hormone", "epidemiology" keresőszavak kombinációival. A közleményekből a szerzők, a folyóirat scientometriás rangja, a közlemények jellege (saját kutatás, vagy referáló) és a rájuk adott hivatkozások alapján empirikusan válogattunk. Kövekeztetések összehasonlításával alakítottuk ki saját véleményünket narratív áttekintő közleményünkben.

#### 4. EREDMÉNYEK

##### 4.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány

###### 4.1.1 Posztmenopauzális nők tanulmánya

Keresztmetszeti tanulmányunkban a D-hipovitaminózis prevalenciája 56,7% volt. Normális, oszteopéniás és oszteoporotikus *T*-score értéket a lumbális gerincen rendre 44,4, 34,5 és 50,8%-ban találtunk, az FN régióban 21,9, 39,5 és 38,6%-ban. Az átlagos étrendi kalciumbevitel alacsonyabb volt a javasoltnál vizsgált posztmenopauzális nők között.

A normál és alacsony 25OHD szintűek összehasonlításakor szignifikáns különbséget találtunk az életkor, a PTH szintek, a FN BMD; és a kalcium bevitel területén.

Szignifikáns korreláció volt a 25OHD és életkor között, a napsütéses órák átlaga a 25OHD meghatározások előtti 3 hónapban és a étrendi kalciumbevitel között, a PTH és  $\beta$ -CTX-szintek között, az LS BMD és életkor, testtömeg-index, 25OHD és étrendi kalcium között, az FN BMD és életkor, testtömeg index, 25OHD és étrendi kalcium-fogyasztás között.

Az LS *T*-score adatai alapján szignifikáns különbség volt a normális denzitású és oszteoporotikus alcsoport étrendi kalcium bevitel között. A FN *T*-score alapján szignifikáns különbséget találtunk a normális és oszteoporotikus alcsoportok között a 25OHD szintek és a napi étrendi kalciumbevitel tekintetében.

A D-hipovitaminózis prevalenciája tavasszal, nyáron, ősszel és télen sorban 71%, 46,3%, 49,4% és 56,7% volt.

Statisztikailag jelentős különbséget találtunk a tavaszi és nyári, valamint őszi FN BMD értékekben; a PTH szintek tavaszi értékei és nyáron, ősszel mért szintek között; OC esetében is a tavaszi szintek és nyári - őszi értékek között; az étrendi kalciumbevitel tavaszi és nyári mennyisége között.

A többi változóval kontrollálva a 25OHD szintek szignifikánsan viszonyultak az életkor, az átlagos napi napsütéses órák számával, a 25OHD mérésre történt vérvétel előtt 3 hónappal és az étrendi kalcium felvétellel. Az FN BMD szignifikáns független meghatározói voltak az életkor, a testtömeg index, 25OHD vitaminszint, valamint az étrendi kalcium felvétel. Az életkor és FN BMD voltak csak szignifikáns független meghatározói a LS BMD-nek.



#### **4.1.2. A HunMen tanulmány**

Ebben a keresztmetszeti tanulmányunkban a D-hipovitaminózis prevalenciája 52,9% volt. A normális, oszteopéniás és oszteoporotikus T-score értékek az LS mérési helyen a következők voltak: 64,4%, 27,8% és 7,7%. Az átlagos étrendi kalcium felvétel alacsonyabb volt az ajánlott mennyiségnél.

A normál és alacsony 25OHD szintű résztvevők között a csípőtörések és a fő oszteoporotikus törések 10 éves kockázatában találtunk szignifikáns különbséget a FRAX algoritmus alapján. Nem volt azonban szignifikáns összefüggés a 25OHD és a BMD között a többváltozós variancia-elemzésben azután sem, hogy kor, BMI, PTH és a napi kalcium felvétel adataihoz illesztettük.

Szignifikáns korrelációt mutattunk ki a 25OHD koncentráció és a napi napsütéses órák száma, valamint a csípőtörés FRAX algoritmussal számított %-os valószínűsége és a jelentős oszteoporotikus törések %-os valószínűsége között.

Összehasonlításban szignifikáns különbség volt a naponti napsütéses órák számában az évszakok között (kivéve az ősz és a tél közöttit); a PTH szintekben az ősz és a többi évszakok között; a 25OHD szintekben a nyár és a többi évszak között; a napi étrendi kalciumbevitelben a tél és a tavasz és nyár között; a FRAX szerinti jelentős oszteoporotikus törések %-ában az ősz - tavasz, valamint a nyár között, továbbá tél és tavasz, nyár között; ezen túl a csípőtörés FRAX %-ában az ősz és a többi évszak között. A plazma 25OHD szintek legmagasabbak nyáron voltak, ez után következett a tavasz, az ősz és a tél.

Az FN T-score alapján szignifikáns különbség volt a normál és alacsony BMD-jű alcsoportok között a következőkben: életkor, FRAX index (jelentős oszteoporotikus törések), FRAX (csípőtörés) index és LS BMD. A normál LS T-score értékű személyeket hasonlítva az alacsony BMD-értékűekhez (T-score  $\leq -1,0$ ), szignifikáns különbség volt az átlag BMI, a FRAX (csípő és főbb oszteoporotikus törések) index, OC,  $\beta$ -CTx, PINP, és az LS BMD.

A kalciumbevitellel és a PTH-val illesztve, mindkét FRAX -szám összefüggött az életkorral, az FN BMD-vel és a 25OHD szintekkel.

#### **4.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány**

##### **4.2.1. A szklerosztin tanulmány**

A szérumszklerosztin szintek szignifikáns korrelációt mutattak az életkorral), a cisztatin C-vel, az LS BMD-vel, és az FN BMD-vel. Nem találtunk szignifikáns korrelációt a szérumszklerosztin és a PTH, a BMI, a csontforgalmi-markerek, valamint 25OHD szintek között.

Többváltozós lineáris regressziós analízist végeztünk, hogy meghatározzuk a szérumszklerosztin, mint független változó szintek statisztikailag jelentős előjelzőit. Hasonló befolyásoló változóval kétszer végzendő korrigálás elkerülése érdekében az LS és FN BMD-t külön-külön alkalmaztuk kovariánsként két különböző modellben. Elsőben és az életkor, cisztatin C és az FN BMD, mint független változók bevonásával, az életkor, és a cisztatin C bizonyultak a szérumszklerosztin szintek statisztikailag szignifikáns előjelzőinek. A második modellben az életkor, a cisztatin C és az LS BMD szerepelt független változóként, és csak a cisztatin C (standardizált regressziós koefficiens bizonyult a szérumszklerosztin szintek szignifikáns prediktorának.

A szérumszklerosztin szintekkel az egész csoportban szignifikáns korrelációt mutatott a plazma cisztatin C, szérumsz kreatinin és az eGFR. A korrelációs koefficiens ( $r$ ) nagysága és a szignifikancia ( $p$ ) szintje a legerősebb összefüggést mutatta a plazma cisztatin C-vel. Megjegyzem itt, hogy az MDRD tanulmány képlete az eGFR számolására magába foglalja az életkort, így a kor és a GFR nem független változók, emiatt a kimenetel inkább képviselheti az életkort, mint magát a vesefunkciót. Ebből következik, hogy a cisztatin-C szint érzékenyebb jelzője lehet GFR-nek, mint a szérumsz kreatinin koncentráció, és ezt nem befolyásolja az életkor, étrend és izomtömeg.

Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a medián 59 éves kort vettük két alcsoport elválasztójának. A tanulmány résztvevői férfiak voltak, az egész csoportot középkorú ( $\leq 59$  év,  $n=98$ ) és idősebb alcsoportra ( $>59$  év,  $n=96$ ) osztottuk. A középkorúakhoz viszonyítva az idősebbeknek szignifikánsan magasabb szérumsz kreatinin és plazma cisztatin C szintjei voltak. A középkorú férfiak szklerosztin szintje nem mutatott korrelációt semelyik vizsgált paraméterrel (kor, cisztatin C, BMI, LS BMD, FN BMD, PTH, 25OHD, OC,  $\beta$ -CTx, PINP). Az idősebb férfiakban viszont a szérumsz kreatinin szintek szignifikáns korrelációt mutattak az életkorról és a cisztatin C-vel. A cisztatin C és az életkor bevitelét független változóként a regressziós modellbe azt mutatta, hogy a cisztatin C volt az egyedüli szignifikáns prediktora a szérumsz kreatinin szinteknek.

A már említett korrelációkon túl, az egész csoporton belül a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnal, az eGFR értékkel, PINP, és az oszteokalcinnal; középkorú férfiakban a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnal, az eGFR értékkel, a PINP-vel, oszteokalcinnal és a  $\beta$ -CTx szintekkel; idősekben a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnal és az eGFR értékkel.

Férfiakban az LS BMD normál T-score ( $> -1,0$ ) esetén ( $n=125$ ) a szérumsz kreatinin szintek szignifikánsan magasabbak voltak, hasonlóan az alacsony LS BMD ( $n=69$ ) T-score ( $\leq -1,0$ ) értéket mutató társaikhoz ( $n=69$ ). Nem volt különbség a szklerosztin-szintekben, ha az

FN BMD normál T-score ( $>-1,0$ ) értékű férfiakat az alacsony ( $\leq-1,0$ ) FN BMD T-score értékűekhez hasonlítottuk ( $n=85$ ).

A normál FN BMD értékű idős alcsoporthoz viszonyítottak szérumszintjei magasabbak voltak, mint a középkorúaké. Az alacsony FN BMD értékűek közül az idősekben magasabb, de statisztikailag nem szignifikáns szérumszklerosztin szinteket mértünk a középkorúakhoz viszonyítva.

## 4.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány

A HunMen tanulmányba véletlenszerűen válogatott 229 önkéntesből 23 nem volt beválasztható. A tanulmánytervben eredetileg nem szerepeltek az OPG és RANKL mérések, így a másodlagos tervben a 206 résztvevőtől csak 194 minta mérése vált lehetővé.

Az OPG szignifikánsan korrelált az életkorral, a cisztatin C-vel, össz 17 $\beta$ -ösztradiollal (E2) és Szabad tesztoszteron Index-el (FTI).

Továbbá, a Spearman rang-korrelációs teszttel a cisztatin C korrelált az életkorral, a kreatininnel, az MDRD eGFR értékkel, az ösztradiollal, a PINP-vel, és az OPG-vel. Bár az OPG nem korrelált a szérumszintjével, vagy az MDRD eGFR-értékkel, azonban a szignifikáns korrelációt mutatott a cisztatin C-eGFR értékekkel, a cisztatin C-vel és a kreatinin-eGFR értékekkel.

Többváltozós lineáris regressziós analízis során az életkort, a cisztatin C-t, FTI-t és E2-szintet mind kiadta, mint a szérumszintje szignifikáns prediktorait.

Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a résztvevők teljes csoportjából két alcsoportot képeztünk a medián 59 éves életkor, mint empirikus választóvonal segítségével. Az egyik a középkorúak alcsoportja ( $\leq 59$  éves,  $n=98$ ) és egy másik az idősebbeké ( $>59$  éves,  $n=96$ ). A középkorúakhoz viszonyítva az idősebbek OPG szintje szignifikánsan magasabb, a RANKL szintje és RANKL/OPG hányadosa viszont szignifikánsan alacsonyabb volt. A középkorú személyekben a szérumszintjei és sRANKL szintek nem mutattak szignifikáns korrelációt, hasonlóan a többi vizsgált paraméterhez. Az idősebb férfiakban szignifikáns korrelációt mutattunk ki a szérumszintjei és cisztatin C szintek között. Közülük a cisztatin C és E2 bevonásával készült regressziós modell szerint csak a cisztatin C bizonyult a szérumszintje szignifikáns prediktorának.

Nem volt szignifikáns különbség a mérésihatár alatti ( $<0,02$  pmol/L,  $n=74$ ) és a detektálható ( $\geq 0,02$  pmol/L,  $n=120$ ) sRANKL szintű személyek között a vizsgált paraméterekben, kivéve az LS BMD és az FN BMD értékeket. Vagyis az LS és FN BMD szignifikánsan alacsonyabb volt azokban, akiknek sRANKL szintje nem detektálható.

Nem volt különbség az OPG, sRANKL, és sRANKL/OPG hányados tekintetében, ha az elegendő ( $25\text{OHD} \geq 75 \text{ nmol/L}$ ) és az elégtelen ( $25\text{OHD} < 75 \text{ nmol/L}$ ) D-vitamin ellátottságú egyéneket hasonlítottuk össze.

### **4.3. A terhességi és laktációs tanulmány**

A biokémiai változókat vizitek között hasonlítottuk össze. Nem volt szignifikáns különbség a vizelet kalcium/kreatinin hányados, a szérum kalcium, foszfát és 25OHD értékei között a tanulmány vizítjei szerint. A PTH szintek szignifikánsan növekedtek kiindulástól a szülés utáni (PP) 12. hónapig. Ez történt az OC szintekkel a kiindulás és a szülés között, a kiindulás és a PP6 vizit között, a G vizit és a szülés között, a G és PP6 között, a PP6 és PP12 vizitek között. Szignifikáns különbség volt a BSAP szintekben a kiindulás és a szülés között, a kiindulás és PP6, a G vizit és szülés, a G és PP6, a szülés és PP6 és a szülés és PP12 vizit között. Hasonlóan a PICP értékek különböztek a kiindulás és szülés, a kiindulás és PP6, a G vizit és a szülés, a G és PP6, a szülés és PP6 között. A D-pyr értékek jelentős különbsége a G és szülés, valamint a szülés és PP6 között igazolódott.

### **4.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata**

Az IFCC Committee for Bone Metabolism (C-BM) multicentrikus tanulmányt szervezett a PINP méréséről szérumban és EDTA-plazmában mintában, négy európai laboratórium részvételével. A mérést szérumban és EDTA-plazmában három kereskedelmi forgalmú reagenscsomaggal végezték 796 oszteoporotikus páciensből vett mintákból. Mindegyik reagens-együttes hasonló eredményt adott mindkét matrixban. Az automatizált PINP mérés (Roche Cobas és IDS iSYS módszerekkel) hasonló eredményeket adott. A Bland-Altman pontdiagramm és a V-alakú modell alkalmazásával a szérumból és plazmából nyert eredmények 87,4%-ban és 86,1%-ban a V-modell határai közé estek. A két módszerrel nyert eredmények közötti medián különbség nem szignifikáns 0,25  $\mu\text{g/L}$  volt. Ezzel ellentétben az Orion RIA és a két automata rendszer mérési adatai között szignifikáns, arányos hibát állapítottunk meg. A Passing-Bablok regresszióval, a Bland-Altman diagramm módszerrel és a V-alakú modellben.

#### **4.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány**

A Debreceni Regionális Immunológiai Centrum mintegy 600 gondozott betegéből dokumentumaik alapján a vizsgálati terv besorolási és kizárási kritériumai alapján 70 személyt hívtunk meg résztvevőnek tanulmányunkba. Közülük 43 írásos beleegyezését adta és részt vett a szűrésben, végül 32 személyt soroltunk be. A résztvevőket véletlenszerűen soroltuk ösztadiol kezelési (n=15) és placebo (n=17) csoportba.

Az ösztadiol- és placebo-kezelés csoport között kiinduláskor nem volt szignifikáns különbség életkoruk; testtömeg-indexük; a menopauza időtartama besoroláskor; a betegség időtartama; a SLEDAI; a SLICC; a napi kortikoszteroid adag; kumulatív kortikoszteroid adag; 17 $\beta$ -ösztadiol; FN és LS BMD,  $\beta$ -CTx és OC szintek tekintetében. Korai menopauza diagnózisát mindkét csoportban 4-4 személy esetében dokumentálták.

On-treatment és intention-to-treat (ITT) elemzést is végeztünk. A két elemzésből a baseline, M3, M6, M9 és M12 viziteken az on-treatment elemzés résztvevőinek létszáma a vizitek sorrendjében az ösztadiol csoportban 15, 11, 11, 8, 7, a placebo-csoportban 17, 16, 16, 15, 14 volt, az ITT analízisben a baseline, M3, M6, M9 viziteken a résztvevők száma 15, az M12 viziten 14 volt, a placebo csoportban 17 személy volt az első négy viziten, és 16 személy az M12 viziten.

*On-treatment* analízis

#### **Csoportok közötti elemzés**

Szignifikáns különbséget találtunk az ösztadiol-kezelt és a placebo csoportok között az LS BMD százalékos változásában a kiindulási és a 6 hónapos vizit összehasonlításakor, az ösztadiol és a placebo csoport között az OC szintek százalékos változásában a 6 hónapos és 12 hónapos viziteken, az ösztadiol- és placebo-csoport között a szérums C4 szintekben az M3 vizit időpontjában és az M6 viziten, ösztadiol- és placebo-csoport között a szérums anti-dsDNS antitest szintekben az M6 viziten.

Statisztikailag jelentős különbséget találtunk az ösztadiol- és placebo-csoportok között a szérums IgM anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest-szintekben az M9 viziten és az M12 viziten, valamint az ösztadiol- és placebo-csoportok között a szérums 17 $\beta$ -ösztadiol szintekben minden viziten (kivéve a kiindulási értékeket).

#### **Csoporton belüli elemzés**

##### **Ösztadiol csoport**

Jelentős különbség volt: a szérums  $\beta$ -CTx szintekben a kiindulás (kezelés előtti) és M3 vizit között, a kiindulás és az M6 vizit között, a kiindulás és M9 között és az indulási és az M12 vizit között; a szérums teljes komplement aktivitásban az M3 és M9 vizit között, és az M3 és M12 vizitek között. További különbséget találtunk a szérums anti-dsDNS antitest szintekben a

kiindulási és M12 vizitek között; a szérumban IgG anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest szintekben a baseline és M6 vizit között; a baseline és M9 között, valamint a baseline és az M12 között. A SLEDAI pontszámok szintén különböztek a kiindulás és az M3 között; a szérumban  $17\beta$ -ösztadiol szintek is a baseline és a többi következő vizit között.

### **Placebo-csoport**

Szignifikáns különbség volt a szérumban  $\beta$ -CTX szintekben az alapérték és az M3 vizit eredményei között; a szérumban C3 szintekben az M3 és M9 vizitek között; a szérumban IgG anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest szintekben a kiindulási és M6 vizit; a szérumban IgM anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest szintekben az alapértékek és M9 vizit szintjei között; a SLEDAI pontok tekintetében a kiindulás és az M9 vizit között.

*Intention-to treat elemzés*

### **Csoportok közötti analízis**

Szignifikáns különbséget kaptunk az ösztadiol- és a placebo-csoport között az LS BMD százalékos változásában a baseline és M6 vizit és az M12 között, az ösztadiol- és placebo-csoport között a szérumban anti-dsDNA ellenanyag szintekben az M6 viziten valamint az ösztadiol- és placebo-csoport között a szérumban  $17\beta$ -ösztadiol szintekben a kiindulási értéken túl minden vizit időpontjában.

### **Csoporton belüli elemzés**

#### **Ösztadiol csoport**

Jelentős különbséget találtunk a szérumban  $\beta$ -CTX szintekben a kiinduláshoz képest az M3 időpontban, kiindulás és M6 vizit között, kiindulás és M9 között, indulás és M12 között. Jelentős különbség volt a szérumban IgG anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest szintekben az indulás és M6 között indulás és M9 között és a kiindulás és M12 között; a SLEDAI pontok szerint az alapvonal és M3 között; a szérumban  $17\beta$ -ösztadiol szintek a kiindulási érték után minden viziten magasabbak voltak.

#### **Placebo csoport**

Szignifikáns különbség volt a szérumban  $\beta$ -CTX-szintekben a kiindulás és az M3 között; a szérumban IgG anti- $\beta$ 2-glikoprotein antitest szintekben a kiindulási és az M6 vizit között, a baseline és M9 között és az alapérték és az M12 között; a SLEDAI pontokban a kiindulás és az M3 vizit között.

A tanulmányból egy résztvevő esett ki az M3, hárman az M9 vizitkor peccsételő vérzés és érzékenységi miatt. A problémák beavatkozás nélkül megoldódtak a hormonkezelés megszüntetésekor. Egy páciens az ösztadiol csoportból esett ki mélyvénás trombózis miatt az M3 vizit alkalmával. Antifoszfolipid antitest vizsgálata negatív volt és más hajlamosító rendellenesség sem derült ki. További két résztvevő hagyta abba a kezelést a tapasz okozta allergiás bőrreakció miatt. Egy páciens a placebo-csoportból az M9 vizit után stroke miatt

zártunk ki, a viziten vett vérmintából emelkedett anti-kardiolipin és anti- $\beta$ -glikoprotein antitest títert mutattunk ki. Egy haláleset történt a placebo-csoportban a baseline vizit után, előjelek nélküli akut szívinfarktus miatt. Egy páciens elvesztettünk a követésből mindkét csoportban az M12 vizit előtt.

A résztvevők egyikének sem történt csonttörése, nem volt mammográfiás, illetve nőgyógyászati vizsgálat során rendellenessége a tanulmány során. A kezelések betartása a résztvevők által maximális volt.

#### **4.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya**

##### **4.6.1. A férfi T2DM tanulmány**

A 2-es típusú cukorbeteg (n=68) életkora (átlag, range) 61,4 (51-78) év, köztük a D-hipovitaminózis (25-OH D-vitamin <75 nmol/L) prevalenciája 59% volt. A csontsűrűséget tekintve, a normál, oszteopéniás és oszteoporotikus T-score gyakorisága a lumbális gerincen 79,4, 17,6 és 2,9% volt, a combnyakon 62,5, 35,7 és 1,8%. A csökkent BMD (T-score <-1,0) prevalenciája a FN és LS szekeletális mérőhelyeken 37,5, illetve 20,5% volt. A csípőtörés FRAX szerinti valószínűsége (átlag, range) 0,7 (1-7)% volt, a jelentős oszteoporotikus töréseké 3,2 (0-8,5) %. Egyváltozós variancia-analízissel az FN BMD, az LS BMD szignifikánsan magasabb volt a 2-es típusú cukorbetegben, mint a korban illesztett egészséges személyekben. Az egészséges kontrollokhoz képest a 25OHD vitamin szintek, az OC szintek, a  $\beta$ -CTx koncentrációk és a PTH szignifikánsan alacsonyabbak voltak a T2DM csoportban.

Szignifikáns kapcsolatot találtunk a D-hipovitaminózis és a 2-es típusú cukorbetegség között: a D-hipovitaminózis esetén 2,311 (95% CI 1,147-4,656)x nagyobb volt az esély T2DM betegségre, mint a kontrolloké.

Az inzulint nem használó T2DM betegek BMI-értéke, valamint a FN BMD-je szignifikánsan alacsonyabb volt és inzulin-kezeltekéhez képest, azonban az oszteokalcin szintek magasabbak és a betegség időtartama hosszabb volt az inzulin-kezelt csoportban. Nem volt különbség a két csoport között FRAX szerinti 10 éves törési kockázatban.

#### 4.6.2. A férfi PsA tanulmány

A CASPAR diagnosztikus kritériumokkal azonosított 53 férfi arthritis psoriatica-beteg szerepel ebben a keresztmetszeti, vizsgálók számára vak, kor- és nem szerint illesztett kontrollokkal végzett eset-kontroll tanulmányban. Az életkor-átlag és range mindkét csoportban 54,7 (31-84) év volt. A D-hipovitaminózis (25OHD < 75 nmol/L) 81 és 57% volt a PsA és a kontroll-csoportban. A résztvevők egyike sem használt kalcium- és D-vitamin-pótlást.

A psoriasis betegség időtartama 10,8 (0-50,9) év volt. Egy kisebb betegcsoportban (n=12, 22,6%) a psoriasis diagnózisát csak röviddel az arthritis diagnózisa után állították fel.

A kontrollokhoz képest a PsA betegek 25OHD szintje jelentősen alacsonyabb volt, az OC magasabb, és a  $\beta$ -CTx is magasabb volt a PsA csoportban.

Nem volt szignifikáns különbség az LS és FN BMD értékekben a két csoportban.

Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a medián 55 évnél kettőosztottuk a résztvevőket és kettő korcsoportot:  $\leq 55$  éves (n=27) és  $>55$  éves (n=28) képeztünk. A PsA- és a kontroll-csoport összehasonlításakor a D-vitamin szintek jelentősen alacsonyabbak voltak a fiatalabb és az idősebb PsA csoportban is.

A D-hipovitaminózis és a PsA kapcsolatát vizsgálva a PsA páciensek jelentősen esélyesebbek voltak D-hipovitaminózisa, esélyhányadosuk 3,297 (95% CI 1,372 – 9,922) volt.

Bár a DAS28 pontszám nem korrelált a 25OHD szintekkel, a pikkelysömör kiterjedését jelző PASI pontszám negatív korrelációt mutatott a D-vitamin koncentrációval.

#### 4.6.3. A PsA-pQCT tanulmány

A CASPAR diagnosztikus kritériumoknak megfelelő pszoriaticus arthritiszese betegeket (n=118) soroltunk be ebbe a keresztmetszeti, eset-kontroll, vizsgálók számára álcázott, kor és nem szerinti kontrollcsoporttal készült tanulmányba. A páciensek medián életkora 54 év (range: 25-85) volt, 67:51 nő-férfi megoszlással. A pszoriaticus ízületi gyulladás időtartama 16 év (range: 1-72) és 9 év (range: 0-39) volt. A páciensek kisebb hányadában (n=14, 12%) a psoriasis diagnózisát az ízületi gyulladás kórisméje után állították fel (átlagosan 5 éven belül). A kontrollokhoz viszonyítva mind az aBMD, mind pedig a volumetriás BMD (vBMD) értékei szignifikánsan rosszabbak voltak a PsA-betegekben: az L1-L4 aBMD, FN aBMD, a disztális radius (DR) teljes volumetriás BMD, DR trabekuláris vBMD, DR kortikális vBMD.

A többi vizsgált paraméter tekintetében is hasonló képet kaptunk: a 25OHD szintek alacsonyabbak, a jelentősebb csontörések és a csípőtörések bekövetkezének 10 éves valószínűsége magasabb, a csontforgalmi-markerek közül a  $\beta$ -CTx és PINP szintek jelentősen magasabbak voltak a PsA-betegekben a kontrollokhoz képest.



Az arealis és a vBMD értékek között statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk.

Az intervenció határként jelölt FRAX 10 éves törési kockázatot - fontosabb oszteoporotikus törésre  $\geq 20\%$ , csípőtörésre  $\geq 3\%$  - beteganyagunkban 1 (1%), ill. 8 (8%) páciens érte el.

A teljes betegszámból 53 (44,9%) hagyományos szintetikus (cMARD -metotrexát, leflunomid, hydroxychloroquine, vagy sulphosalazine), 62 (52,5%) pedig biológiai (bMARD -influximab, adalimumab, etanercept, rituximab, abatacept, tocilizumab, certolizumab, vagy ustekinumab) betegségmódosító antireumatikus gyógyszerkezelést kapott monoterápiában, vagy kombinációban.

A PsA-betegek csoportjában egyváltozós variancia-analízis számos összefüggést fedett fel: az alacsonyabb FN aBMD-értékű személyek idősebbek voltak, a psoriasis és arthritis fennállásának időtartama hosszabb volt, a magasabb FN aBMD-szintűek BMI értéke magasabb volt.

A nők L1-L4 aBMD értéke jelentősen alacsonyabb volt a férfiakénál; az alacsonyabb DR teljes vBMD érték idősebb életkorral és hosszabb menopauza-időtartammal társult; az idősebb betegekben és a nőkben alacsonyabb DR trabekuláris vBMD értéket mértünk. A magasabb DR trabekuláris vBMD értékű nők fertilis periódusa hosszabb volt; az alacsonyabb DR kortikális vBMD-szintűek idősebbek voltak.

A FRAX 10 éves %-os törési kockázat a jelentős oszteoporotikus törésekre vonatkozóan magasabb volt azokban, akiknek betegsége súlyosabb volt a DAS28 pontszám szerint, akik pszoriázisa és arthritisze hosszabban fennállt, menopauza-időtartamuk hosszabb volt és akik konvencionális (cDMARD) kezelést kaptak és D-vitamin ellátottságuk elégtelen volt (25OHD  $<75$  nmol/L vagy  $<50$  nmol/L).

A többváltozós lineáris regressziós analízis kimutatta, hogy az életkor független jelzője volt mind az arealis, mind pedig a volumetrikus BMD-nek. Továbbá a BMI és az arthritis betegség időtartama szintén megjósolta a FN aBMD-t; a női nem független előjelzője volt a DR vBMD-nek. A DAS28 szignifikáns előrejelzője volt a FRAX által meghatározott jelentős oszteoporotikus törési kockázatnak, valamint a konvencionális DMARD szignifikáns előrejelzője volt a FRAX által meghatározott csípőtáji törési esélynek.

A D-hipovitaminózis gyakorisága a PsA betegekben 79%, a kontrollcsoportban 58% volt. A PsA-betegek esélye D-hipovitaminózisra 2,7 x magasabb volt (95 % CI 1,54-4,85,  $p < 0.001$ ).

#### **4.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin**

A HunMen mind a 206 mintájának totál 25OHD mérési eredményét újraértékeltek a Liaison DiaSorin CLIA platformon.

Az átlag totál 25OHD érték feltűnően változott, azaz az eredeti HPLC módszerrel mért 73 nmol/L-ről a Liaison DiaSorin CLIA platformon mért 53 nmol/L-re, majd a NIST totál célérték hiba-standardizációjával 62 nmol/L lett. Következésképpen az eredetileg közölt, HPLC-vel mért adatok szerinti D-hipovitaminózis (<75 nmol/L) gyakorisága jelentősen, 53-ról 72%-ra emelkedett a standardizációt követő DiaSorin módszer szerint. A HPLC-vel mért értékekben az évszakok szerint szignifikáns különbség volt a nyári és a többi évszakban mért értékek között, és ez a lelet nem változott a DiaSorin és a standardizált 25OHD koncentrációk esetében sem. Továbbá, a standardizáció után a HunMen értékek egybehangzóak voltak a Magyarországról mások által közölt adatokkal.

#### **4.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya**

*25OHD meghatározások analitikai teljesítmény-specifikációja (APS) az EuBIVAS, EFLM Modell 2 alapján*

A résztvevők medián száma centrumonként 15 (range 12-19) volt, általában fizikailag aktívak voltak, kb. 3% rendszeresen dohányzott. Medián testtömeg-indexük (BMI) 22,5 kg/m<sup>2</sup> (range 17,6-32,5) volt és egyiküknek sem volt vesekárosodása.

Átlag 25OHD koncentrációjuk 19,0 (95% CI: 18,6-19,4) ng/mL, az átlag CV<sub>A</sub>, amelynek megállapítása kettőzött vizsgálattal történt, 1,7% (95% CI: 1,6-1,8). A koncentrációk különbségét a férfiak (alacsonyabb koncentrációk) és a nők között a 95%-os CI tartományok átfedésének hiányával azonosítottuk, így különböző CV<sub>G</sub> értékeket számoltunk a férfiak és nők számára. Nem találtunk szignifikáns különbséget a férfiak és nők CV<sub>V</sub> értékei között.

Lineáris regresszióval vizsgáltuk különböző vérvételekből mért koncentrációk átlagát az elvégzett vérvételek számával szemben. Ez a regresszió mutatta, hogy a résztvevők 25OHD szintje nincs állandó szinten, mivel a regressziós vonal 95%-os CI zónája a zérót nem foglalja magába. A résztvevők földrajzi tartózkodási helyétől függetlenül a 25OHD koncentrációk lineáris növekedési tendenciát mutattak a mintavétel időpontjának a 2015. év európai tavaszra eső időszakában. Emiatt ez az adatsoport nem tekinthető homogénnek a Cochrane teszt alapján, pedig ez előfeltétele a CV<sub>I</sub> és a CV<sub>G</sub> becslésének. Az adatok homogenitását csak az adatok több mint 50%-ának eltávolításával lehetett elérni, következésképpen CV<sub>I</sub> 17,8%-ról (teljes

populáció, eredeti adatok) 6,3%-ra csökken (95% CI: 5,9-6,8); 41 személy. A teljes, 10 mintát tartalmazó együttes két alcsoportra osztása, vagyis 1-től az 5. mintáig az első szett, a második pedig a 6-10. mintavételig, nem oldja meg a homogenitás hiányából adódó problémát, mivel kívülesők detektálását eredményezi az adatok kb. 13%-ában. A  $CV_1$  5,8%-tól 7,1%-ig változott a nemnek és a vérvételi alcsoport-besorolásnak megfelelően. A  $CV_G$  25,0% és 39,2% között oszlott meg. Ezek az adatok világosan megmutatták, hogy a hagyományos BV felfogás, amelyben a mérendő analit egy homeosztatiszikus beállási pont körül ( $CV_1$ ) változik, a homeosztatiszikus nyugvópontok ( $CV_G$ ) közötti különbségek miatt nem alkalmazható a 25OHD-re.

Bár a 25OHD koncentrációk a csoportban különböztek lakóhely szerint, és a 25OHD koncentrációk kissé eltérő mértékben növekedtek, az adatok mégis megjelenítik az "élettani" variációt ezeken az európai földrajzi helyeken 2015 tavaszán. Eszerint az egész adategyüttes további elemzésre alkalmas lehetne olyan stratégiával, amely megfelelhet az APS-ből származtatott EFLM I modell megközelítésének, és amely a vizsgálati teljesítőképesség klinikai kimenetelre gyakorolt hatásának becslésére szolgálna. Átlagos különbség az egymás utáni mintavételek eredményei között 2,8% volt. Egy vizsgálati módszer, amely képes lenne szignifikáns különbséget tenni a 25OHD koncentrációk heti élettani változásai között megmutatná a teljesítmény-jellemzőket, pl. a mérési bizonytalanságot (MU), az alábbi számítás szerint:

$$\text{Változás (\%)} = 2^{1/2} \times \text{MU (\%)} \times Z,$$

ahol Z a Z-score-nak felel meg, azaz a kívánt valószínűségnek megfelelő SD-k száma. Ebben az esetben a variabilitás növekszik, így a statisztikai megközelítés egyoldalú kell legyen és 95%-os valószínűségre vonatkozzon, Z értéke 1,645.

Fontos, hogy a D-vitamin adása és a 25OHD szintek mérése/monitorozása között legalább 3 hónapnak kell eltelnie. A regressziós vizsgálat azt mutatja, hogy a 25OHD koncentrációk élettani variációja a vizsgált személyekben 10 hét alatt 31,6% volt. A korábban bemutatott egyenlet szerint  $31,6\% = 2^{1/2} \times \text{MU (\%)} \times 1,645$ , egy módszer, amely el tudja különíteni az élettani változást a D-vitamin-pótlással előidézett hatástól  $p < 0,05$  szinten,  $< 13,6\%$ -os MU értékkel kell rendelkezzen. De pl.  $p < 0,01$  szinten az ide illő Z-score 2,326, így az APS az MU számára 9,6% és formula a következő lesz:  $31,6\% = 2^{1/2} \times \text{MU (\%)} \times 2,326$ .

#### 4.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról

A beválasztási feltételek és a rendelkezésre álló információk kutatásának eredménye 15 ország kiválasztását eredményezte, kilencet a Közel-Keletről és hatot Európából. Izrael, Olaszország és Katar esetében számos népességi csoportból származó adatokat mindegyik esetében átlagoltuk

és az országos 25OHD koncentrációkat a csoportlétszám, mint súlyozó figyelembevételével számoltuk ki.

További adatokat posztmenopauzális nők érendi összetételéről 19 országból az oszteoporózis bazedoxifen kezelését tesztelő nemzetközi klinikai vizsgálat közleményéből vettük.

A 15 országot magába foglaló tanulmányban az érendi tényezők erős korrelációt mutattak a földrajzi szélességgel, míg a 19 ország adataiban nem. Így a 15-országbeli tanulmányban nehéz elválasztani az UVB és a diéta hatásait. A 19 országbeli regressziós eredmények azt sugallják, hogy a tengeri hal a legfontosabb érendi összetevő, amely a 25OHD szinteket befolyásolja európai posztmenopauzális nőkben, de az állati zsír is hozzájáruló tényező.

#### **4.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány**

##### *A COVID-19-re és légúti betegségekre vonatkozó klinikai és epidemiológiai eredmények*

A hipotézis kifejlesztésének első lépcsője: adatok gyűjtése a vizsgálni kívánt betegség epidemiológiai és klinikai kapcsolatáról a 25OHD koncentrációkkal. Napjaink szakirodalmából tudjuk, hogy a COVID-19 a pro-inflammatorikus citokinek fokozott termelésével, emelkedett C-reaktív protein-szinttel, fokozott pneumonia-, szepszis-, akut respiratorikus distressz-szindróma és szívelégtelenség- kockázattal társul. A fatalitási ráta (Case Fatality Rate, CFR) Kínában 6-10% volt a szív-érbetegek, idült légúti betegek, cukorbetegség és hipertóniások körében. A COVID-19 a nagy légszennyezésű kínai és észak-olaszországi régiókat sújtotta legkeményebben. A D-vitamin- és placebo-kezelésben részesülő személyek egészség-végpontú eredményeinek összehasonlítását végző RCT-eket előnyben részesítik az oki összefüggések keresésekor. Azonban a legtöbb ilyen RCT nem tudta igazolni, hogy a D-vitamin adása csökkentette volna a betegség kockázatát. A megfigyeléses tanulmányok és RCT-k közötti megegyezés hiányát számos tényező okozhatja. Köztük biztosan szerepel a tanulmányok besorolt résztvevőinek viszonylag magas 25OHD koncentrációja, alacsony D-vitamin adagok, valamint a kiindulási és elért 25OHD koncentrációk mérésének hiánya. Korábbi tanulmányok javasolták, hogy a tápanyagnak minősülő készítményeket, mint a D-vitamint vizsgáló RCT-eket ellátottsági állapotra kell építeni, mint pl. a 25OHD koncentrációk. Résztvevőként hiányos ellátottságú személyeket kell toborozni és elegendő mennyiséget kell adni nekik, hogy elérjék a koncentrációt, amely a jó egészséggel társul. Továbbá kofaktorokat is kell kapniuk a cél eléréséhez, mint a C-vitamin, omega-3 zsírsavak és magnézium. Két közelmúltban befejezett

RCT közleményében leírták, hogy a másodlagos elemzés a rák és diabetes mellitus szignifikánsan csökkent incidenciáját mutatta.

A CFR korral járó folyamatos növekedését a krónikus megbetegedések időskori növekvő aránya okozhatja. Például a diabetes mellitus globális prevalenciája a 20 éven aluliak közötti kb. 1%-ról 45 éves korra mintegy 10%-ra, 65 évesekben 19%-ra emelkedett, majd 95 éves korig 14%-ra csökkent. Az invázív tüdőrák incidenciaráta nőknél az Egyesült Államokbeli 2015-i statisztika szerint a 30-34 éves korosztályban 1,1/100 000 volt, az 50-54 évesek körében 51,0/100 000 lett, majd a 65-79-es korcsoportban 204,1/100 000-re emelkedett és tovább nőtt a 75-79 évesek között 347,3/100 000-re. Számos tanulmányban beszámolnak róla, hogy idült betegségben szenvedők 25OHD koncentrációja alacsonyabb, mint az egészségeseké. Egy olaszországi vizsgálat szerint férfi COPD-betegek átlagos 25OHD szintje 40 (95% CI, 32,5-45) nmol/L, míg a nőbetegéké 32,5 (95% CI, 27,5-37,5) nmol/L volt. Egy Dél-Koreából közölt vizsgálat szerint közösségben szerzett pneumonia (CaP) betegekben az átlagos 25OHD koncentráció kórházi felvételkor 35 nmol/L volt. Iráni hipertóniások 25OHD szintje alacsonyabb, mint az egészséges kontrollszemélyeké; férfiakban 32,5 vs. 52,5 nmol/L, nőknél 32,5 vs. 50 nmol/L. Az immunválasz időseddel járó csökkenését befolyásolja a csökkenő aktív D-vitamin metabolit (1,25(OH)<sub>2</sub>D, vagy kalcitriol)-képződés.

Sok vírusfertőzés évszaki ingadozása a 25OHD szintek változásaival társul a téli alacsony UVB sugárterhelés miatt a mérsékelt égövben és az esős évszak miatt a trópusokon, például erre a respiratórikus sinciciális vírus (RSV) fertőzés. Hasonló a helyzet az influenza és a SARS-CoV esetében is. A MERS azonban egy csúcsot mutatott az április-júniusi negyedévben, valószínűleg a tömeges mekkai zarándoklat (haddzs) miatt, és mert a 25OHD koncentrációk évszaki változása a Közel-Keleten csekély mértékű. Trópusokon az évszaki változás az esős időszakokban mérhető alacsony UVB-dózissal kapcsolatos pl. az influenza esetében.

Jelentős mennyiségű közvetett bizonyíték származik egyéb burokba zárt (enveloped) vírusok hatásainak vizsgálatából.

Egyik út, amelyen át a CoV-k károsítják a tüdő hámsejtjeit és gyorsítják a pneumonia kifejlődését, a Th1-típusú citokinek fokozott termelése, amely része a vírusfertőzésre adott veleszületett immunválasznak, és amely a citokin-viharnak nevezett állapothoz vezet. Sejt szintű vizsgálatok adataiból közölték, hogy az interferon- $\gamma$  felelős a SARS-CoV-ozta betegség késői fázisában kialakuló tüdőkárosodásért. A CoV fertőzés okozta pro-inflammatórikus citokin-vihar okozta a betegség legsúlyosabb eseteit. Azonban a COVID-19 fertőzés elindította a Th2 citokinek fokozott szekrécióját is (pl. az interleukin 4 és 10), amely gátolja a gyulladási folyamatot és ebben különbözik a SARS-CoV fertőzéstől.

5. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

**5.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány**

**5.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmány**

Más európai országokban végzett hasonló méretű vizsgálatokhoz képest saját adataink a D-hipovitaminózis magasabb prevalenciáját mutatták. A különbség még nagyobb volt a tavaszi mintákban. Ezt a különbséget csak részben magyarázza, hogy a vizsgálat időszakájában általánosan használt határértékeknél magasabb, 50 nmol/L koncentrációt tekintettünk választóvonalnak, de a különbségek másik fő forrása a vizsgálóhelyeken használt 25OHD mérőmódszerek különbözősége lehet.

Az elégtelen D-vitamin ellátottságnak több oka van, nevezetesen az elégtelen felvétel, gyenge napsugár-hatás, a D-vitamin anyagcserét befolyásoló kóros állapotok, vagy gyógyszerek. Vizsgálatunk résztvevői között ez utóbbi okot kizártuk. Tudjuk, hogy az alacsony kalciumbevitel növeli a PTH- termelést, következményesen a szérum 1,25-dihidroxi D-vitamin vérszinteket, melynek eredménye a 25OHD fokozott lebomlása, csökkenő szintekkel, súlyosbítva a D-vitamin hiányt. Anyagunkban is összefüggést találtunk az étrendi kalciumfelvétel és a 25OHD szintek között.

Ahogy várható volt, a szérum PTH szintek a 25OHD-vel ellentétes évszaki változást mutattak, magasabb koncentrációt tavasszal és alacsonyat nyáron.

A szérum 25OHD szint a vérvételt megelőző évszak napsugárzásának időtartamától függ. Adataink szerint a 25OHD vérszintek évszaki változásával azonos irányban változtak a FN BMD értékek is. Úgy lehetne a 25OHD szintek és a BMD évszaki változásait pontosan meghatározni és a varianciát csökkenteni, ha ugyanazon személyeket vizsgálnánk, vennék tőlük mintát ismételtelen minden évszakban, annak meghatározott időpontjában.

A szérum PTH emelkedése fokozza a csontforgalmat, ami rendszerint fokozott kortikális csontvesztést okoz. Mi szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PTH és a  $\beta$ -CTx szintek között, de a BMD nem korrelált velük.

Egy németországi vizsgálat a csont turnover mutatók évszaki váltakozását találta, anyagunkban azonban csak az OC szintek szezonálisát tudtuk igazolni. Többen igazolták, hogy D-vitamin-hiányos személyekben a szérum PTH, valamint a csontlebontás- és képzés markereinek szintnövekedése együtt jár a fokozott csontforgalommal (remodeling) és csontvesztéssel.

Mi azt találtuk, hogy az FN csökkent denzitása kapcsolatban van a 25OHD szintekkel és az étrendi kalcium bevitellel, de nem tudtunk összefüggést igazolni a PTH- és a csontforgalom biokémiai markerei között.

Tanulmányunk keresztmetszeti felépítésű, ennek ismert korlátaival. Feltételeztük, hogy az általunk létrehozott vizsgálati csoport a hazai népességet elfogadható közelítéssel képviseli. Bár tudtuk, hogy a napfényes órák száma szerint a szérum 25OHD szintje változik, egyénenként nem mértük a napsugár-expozíciót.

Legfontosabb megállapításunk, hogy a D-hipovitaminózis prevalenciája, különösen tavasszal Magyarországon magas a közösségben élő posztmenopauzális nők körében, valamint, hogy az alacsony 25OHD szintek és a kevés kalcium-felvétel kapcsolatban van a combnyak alacsony ásványianyag-sűrűségével. Mivel a combnyak csökkent BMD értéke erőteljes jelzője az oszteoporotikus törések fokozott kockázatának, megállapításaink forrásanyagként szolgálhatnak az egészségpolitikai döntéshozók számára a D-vitamin- és kalciumpótlás szezonális támogatására. Egy ilyen döntés költséghatékony hozzájárulás lehet az oszteoporózis és a következményes csonttörések megelőzéséhez.

### **5.1.2. A HunMen tanulmány**

A D-hipovitaminózis prevalenciája férfi kohorszunkban alacsonyabb, mint amit korábban magyar posztmenopauzális nőkről közöltük. Mások által férfiakról közölt európai tanulmányok adataihoz képest saját anyagunk 25OD szintjei magasabbak, viszont az Egyesült Államokból származó adatoknál alacsonyabbak. A különbségek egyik oka lehet, hogy az Egyesült Államokban a tápanyagok D-vitamin pótlása igen gyakori, de nem zárható ki, hogy a vizsgálati módszerek különbözősége is hatással volt a mérési eredményekre.

Amint korábban közöltük, mi férfiakban is megállapítottunk évszaki váltakozást a D-vitamin szintekben. Ezek a változások is követték a naponkénti napsütéses órák számát évszakonként.

Egy másik magyar férfi népességi csoport tagjait (n=431) a multicentrikus European Male Aging Study (EMAS) résztvevőiként vizsgálták Szegeden, a 8 centrum egyikében. A csontok állapotát a sarokcsont kvantitatív ultrahanggal vizsgálták. Az eredő UH-paraméterek összefüggést mutattak a korrall és életmódbeli tényezőkkel. Az átlagos 25OHD értékek az egész EMAS kohorszban alacsonyabbak voltak az általunk vizsgált csoportnál, de a magyar résztvevők D-vitamin ellátottságát nem részletezték. Egy másik nemzetközi vizsgálat, a SENECA magyar résztvevőinek (n=19) 25OHD szintjei is alatta maradtak a mi mérési adatainknak. A D-vitamin szintek és a csontegészség összefüggéseit magyar férfi népességben korábban még nem elemezték részletesebben, mint a mi jelen anyagunkban.

Megfigyelésünk, miszerint a D-vitamin ellátottság nem korrelál a LS és FN csontsűrűségével, ellentétben a saját korábbi, magyar posztmenopauzális tanulmányunk

megállapításával, ahol a D-vitamin szintek jól korreláltak a combnyak denzitással. Az irodalomban Kudlacek és mtsai, valamint Hannan és mtsai is sem találtak összefüggést a csontsűrűség és a D-vitamin szintek között férfi népességi mintáikban.

Jelen tanulmányunk egyik megállapítása, hogy a FRAX érték, és nem a BMD társul a D-vitamin vérszintekkel. A FRAX érték integrálja a klinikai törési kockázati tényezőket és a combnyak BMD értéket, ezáltal összesített, komplex mutatója a törési kockázatnak. Az alacsony D-vitamin szintek elfogadottan egybeesnek a törési kockázattal és vizsgálataik megerősítették, hogy a FRAX értékkel is korrelálnak.

Statisztikailag jelentős inverz korrelációt találtunk az FN csontdenzitása és az OC, PINP szintek, valamint az LS csontdenzitása valamint az OC,  $\beta$ -CTX és PINP között is az irodalomban korábban közöltekhez hasonlóan.

Nem ismerünk korábbi adatokat a magyar férfiak évtrendi kalcium felvételéről. Saját tanulmányunk férfi résztvevőinek kalcium bevitelére magasabb volt, mint az általunk közölt két magyar posztmenopauzális népességi mintában.

Minden résztvevő kaukázusi rasszbeli volt, mint a magyar lakosság többsége. A tanulmány 2009. szeptember és 2010. szeptember között folyt, a besorolások többsége tavasszal és nyáron történt. A besorolt személyek szezon szerinti számbeli megoszlása különbözött, ennek hatása lehetett leleteink statisztikai értékelésének eredményére, tekintve a vizsgált paraméterek szezon-függőségét. Leleteink megerősítik a prospektív tanulmányokban kapott adatokat a D-vitamin szintek évszaki változásairól, de a vizsgálati személyek alacsony száma miatt kevesebb klinikailag jelentős közepes-alacsony mérési adat használatára kényszerültünk mind az elsődleges hatás (D-vitamin-szint), mind a kimenet (BMD) vonatkozásában.

Bár a számított abszolút törési kockázat nem volt súlyos fokú, vizsgálati csoportunkban elsőként mutattunk ki szignifikáns különbséget a törési kockázat mértékében a FRAX kockázatszámító programmal egészséges, alacsony és normális D-vitamin szintű személyek között.

A D-hipovitaminózis gyakori előfordulása és kapcsolata a fokozott törési kockázattal, valamint a D-vitamin-pótlás ismert kedvező hatása az egyének általános egészségi állapotára nyilvánvalóan indokolja az optimális D-vitamin ellátottság új laboratóriumi küszöbértékének általános használatát.

Egy 2010-ben közölt hazai közlemény szerint az Országos Egészségbiztosító Pénztár kiadási tételei között a csípőtáji törések kezelési költsége kategóriájában a legmagasabb volt (13 milliárd Ft, kb. 48 millió EUR), meglepetésre meghaladta a stroke és a szív-érrendszeri betegségek kezelési tételeit. Ilyen megvilágításban adataink gyakorlati hasznosítása jelentős költség- és egészségnyereséggel járhat. Más kutatók adatait megerősítettük, hogy a csontok



egészségi állapota hatékonyan becsülhető a szabad elérésű web-alapú országspecifikus FRAX kalkulátor és BMD-mérés segítségével. Munkánkkal továbbfejlesztettük a magas törési kockázatú személyek kiszűrésének módszerét napi szinten hozzáférhető laboratóriumi vizsgálatok tesztelésével és integrálásuk javaslatával a törések kockázatbecslő algoritmusába.

## **5.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány**

### **5.2.1. A szklerosztin tanulmány**

Ez az első klinikai tanulmány, amelyben szklerosztin szinteket mértek szisztematikusan kiválasztott, 50 évesnél idősebb férfiaki reprezentatív csoportjában. Bár egy korábbi tanulmány vizsgálta már férfi népeségi mintában, a résztvevők kiválasztása nem megszabott besorolási és kizárási feltételek alapján történt.

Eredményeink szerint a szérumszklerosztin-szintek az életkorral emelkednek egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Azt is megállapítottuk, hogy normális FN és/vagy LS mérési T-score esetén idősebb férfiakban magasabbak a szklerosztin szintek, mint a középkorúakban. Mödder és mtsai közleményükben szintén különbséget találtak a középkorú és idős férfiak összehasonlításakor, és azt következtették, hogy a jelenséget az idős emberek korfüggően emelkedő szklerosztin-termelése okozhatja. A jelenség tisztázása további vizsgálatot igényel.

Mödder és mtsai nem tudták kizárni a csökkent protein-clearance szerepét, mint a korral összefüggő szklerosztin-emelkedés okát, mi pedig azt találtuk, hogy a cisztatin C erős prediktora a szérumszklerosztin szinteknek idős korban. Cejka és mtsai pedig arra a következtetésre jutottak, hogy szklerosztint 22 kDa molekulatömege miatt a vese választja ki, és veseelégtelenségben koncentrációja megemelkedik a vérben. Ebből következtetve valószínűnek látszik, hogy a veseműködés növekvő életkorral bekövetkező hanyatlása fontos tényező lehet az idős férfiak emelkedett szérumszklerosztin-szintjeinek létrejöttében. Mienk az első szklerosztin-szinteket vizsgáló tanulmány, amelyben cisztatin C meghatározások is történtek a veseműködés vizsgálatára. A kreatininhez viszonyítva a cisztatin C előnye, hogy független a nem, az izomtömeg és az életkor hatásaitól.

Mivel a szklerosztint csaknem kizárólag az oszteociták képezik, és hatásos gátlói a csontépítésnek, a BMD és a szklerosztin szintek között inverz kapcsolat feltételezhető. Leleteink, összhangban legalább két másik közléssel, az ellenkezőjét sugallják, vagyis a magasabb BMD emelkedett szklerosztin szintekkel társul.

A jelenség oka nem ismert, Cejka és mtsai szerint a nagyobb csonttömeg több oszteocitát tartalmaz, ezért magasabb a szklerosztin-szint.

A Mödder és mtsai által közölt szórásdiagram értékelése alapján valószínűleg tekinthető a mi szklerosztin-értékeink magasabb szintje. A különbség oka lehet a két tanulmány résztvevőinek eltérő beválasztási feltételrendszere. A különbségek további okai lehetnek a csonttömeget befolyásoló környezeti és genetikai tényezők, melyek egyúttal a szklerosztin szintekre is hatással vannak.

Nem gyűjtöttünk ugyan adatokat a résztvevők fizikai aktivitásáról, de feltételezhető, hogy az idős férfiak kevésbé aktívak, mint a középkorúak. A gyengébb fizikai tevékenység szintén hozzájárulhat az emelkedett szklerosztin-szintek kialakulásához.

A HunMen study leleteinek érvényességét részben korlátozza, hogy a szklerosztin szintek vizsgálata nem volt benne az eredeti tanulmánytervben és a 206 résztvevőtől csak 194 vérmintában mértünk szklerosztint. A viszonylag kis mintaszám miatti megfontolásból összehasonlítva, egy csoportban kellett elemeznünk az oszteopóniás és oszteoporotikus személyek adatait, mint "csökkent csonttömegűeket", vagyis leleteinket nem vonatkoztathattuk külön a két csoportra. A kis mintaszám miatt a korösszetétel szerint egyébként egységes csoportok leletei közötti kapcsolat érvényes statisztikai elemzése sem volt lehetséges.

Összefoglalva, ez az első tanulmány, amely 50 évnél idősebb, egészséges férfi népszerű mintában validált immunoassay módszerrel vizsgálta a szérumban a szklerosztin koncentrációt a veseműködés egyidejű felmérésével a cisztatin C-szint meghatározás által. Szükségesnek látjuk további vizsgálatok folytatását az életkorral növekvő szklerosztin-szint emelkedés mechanizmusának pontosabb feltárására.

### **5.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány**

Vizsgálati eredményeink igazolták, hogy a szérumban az OPG szintek növekednek, a sRANKL/OPG hányados pedig csökken az életkor növekedésével egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Az OPG szintek és életkor kapcsolatáról bemutatott megállapításaink összhangban vannak több más szerzővel.

A különböző befolyásoló tényezők kapcsolatában egyedüli az OPG és életkor közötti pozitív korreláció, amelyre vonatkozóan napjainkig a különböző tanulmányok szerzői egyetértésre jutottak. Közülük egyetlen kivétel Oh és mtsai közlése, akik nem találtak szignifikáns kapcsolatot a két paraméter között. Ennek oka az alacsonyabb résztvevő-szám (n=80) és alacsonyabb életkor-maximum (70 év) lehet.

Saját adataink szignifikáns korrelációt mutattak az E2 és OPG között, hasonlóan a Szulc és mtsai valamint Indridason és mtsai közléseihez, és támogatják az a következtetést, hogy

az E2 növeli az OPG mRNA készletét és a fehérjeszintézist az ösztrogénre reagáló humán oszteoblaszt sejtvonalban.

Khosla és mtsai kimutatták, hogy az ösztrogén kezelés növeli az OPG szinteket felnőtt férfiakban. Saját negatív korrelációs leleteink a tesztoszteron és OPG között összhangban vannak két korábbi közlés adataival, de ellentétesek további két közlemény következtetéseivel. Ez a leletünk egy irányba mutat Khosla és mtsai következtetésével, akik *in vivo* igazolni tudták, hogy a tesztoszteron terápia csökkentette az OPG szinteket.

Leleteinkben az életkor és a sRANKL közötti korreláció hiánya összhangban van a mások által korábban közöltekkel.

Kétszemponos variancia-analízissal nem találtunk korrelációt az sRANKL és a BMD között, hasonlóan Trofimov és mtsai, valamint Oh és mtsai közléséhez, de ellentétesen Stern és mtsai eredményeivel, akik inverz összefüggésről számoltak be a RANKL és BMD között.

Kiemelem, hogy az anyagunkban kimutatott statisztikailag magasabb FN és LS csontsűrűség azokban, akiknek magasabbak (kimutatási határ felett) voltak az sRANKL szintjei. Ez a leletünk legalább részben magyarázhatja a nem-traumatikus törések alacsonyabb kockázatát Schett és mtsai tanulmányának azon résztvevői körében, akiknek RANKL koncentrációi az összes mérési adat felső harmadába estek. Ki kell emelni azonban, hogy Schett és mtsai nem találtak összefüggést az sRANKL szintek és a csont-ultrahang (QUS) paraméterek között és BMD méréseket nem végeztek a tanulmány résztvevőin. További adat az ellentmondásokhoz Jorgensen és mtsai közleménye, akik nem találtak különbséget azok BMD szintjeiben, akiknek detektálható, illetve detektálási szint alatti sRANKL mérési eredményei voltak. Igaz, hogy az sRANKL immunoassay mai generációjának kimutatási határa már alacsonyabb, mint a korábbiaké, a detektálási határ további javítása igen kívánatos. Érzékenyebb immunoassay-k bevezetése várhatóan lehetőséget teremtene az sRANKL mérésre azon mintákban is, amelyekben a korábbi és még a mai módszerekkel sem lehetséges a magas kimutatási határ miatt. Ezáltal újabb összefüggések feltárására nyílna lehetőség alacsony RANKL szintekkel társuló rendellenességek körében.

Ezidáig egyetlen tanulmány vizsgálta az sRANKL/OPG hányados és életkor kapcsolatát és nem talált szignifikáns összefüggést. Saját vizsgálataink viszont negatív korrelációt találtak a hányados és az életkor között.

Bár több közlemény támogatta a PTH gátló hatását az OPG-termelésre, mi nem találtunk korrelációt a PTH és OPG szintek között.

Eredményeink összhangban vannak Indridason és mtsai adataival, de ellentétesek Szulc és mtsai, valamint Kudlacek és mtsai által közöltekkel.

Irodalmi közlések támogatják az 1,25OHD stimuláló hatását az OPG termelésre, azonban férfiakban végzett in vivo vizsgálatok ellene szólnak, és mi sem találtunk korrelációt a 25OHD, mint a D-vitamin ellátottság mutatója és az OPG között.

A különböző vizsgálatok gyakran ellentmondó megállapításainak több magyarázata lehet, amelyek legalább részben rávilágítanak a háttérben rejlő okokra. Az okok egyike biztosan az eltérő assay-módszerekben található, de jelentős tényező lehet a fagyasztott minták akár évtizedes tárolási időtartama, a vizsgálati csoport toborzásának eltérő feltételei, a vizsgált kohorsz létszáma és kormegoszlása.

A vese csökkent protein-kiválasztását okozta néhány korábbi szerző a korrall járó OPG-emelkedésért. Mazzioni és mtsai szignifikáns pozitív korrelációt találtak a kreatinin-szint és az OPG között, Samuelson és mtsai pedig kimutatták, hogy az OPG növekvő kvartilis-értékei a GFR szignifikáns csökkenésével járnak.

Ez a lelet ellenétes Szulc és msai által közöltekkel, akik nem találtak korrelációt az OPG és kreatinin értékek között. Saját adataink is hasonlóak az OPG és eGFR kapcsolatát illetően az MDRD egyenlet használatakor, de szignifikáns negatív korrelációt kaptunk, amikor a CKD-EPI cisztatin C és a CKD kreatinin-cisztatin egyenlettel számoltunk. Ez az eredmény igazolja a GFR számításához használt egyenlet típusának fontosságát. Mindazonáltal a kombinált kreatinin-cisztatin C egyenletet jobb teljesítőképességűnek tartják, mint a két markert külön.

Mi erős pozitív korrelációt találtunk az OPG és a cisztatin C szintek között. Pozitív leletünk ellentétes Indridason és mtsai-éval, akik nem találtak ilyen korrelációt. Bár ez utóbbi szerzők assay-módszere nem azonos a mi általunk alkalmazottal, az eltérő módszerek egyedül nem magyarázzák az eredmények különbözőségét. Közölték azonban, hogy férfi idült veseelégtelenségben az OPG pozitív korrelációt mutat cisztatin C-vel.

Bár tanulmányunk résztvevőit egy jól jellemzett és kivizsgált, egészséges férfiakból álló népességi csoportból véletlenszerűen választottuk ki, vizsgálatunknak korlátai is vannak. A HunMen study eredeti terve nem tartalmazta ezen adatok gyűjtését és elemzését. Az időközben történt tervmódosítás miatt az összes 206 résztvevő közül csak 194 mintát vettünk és dolgoztunk fel szérum OPG és sRANKL meghatározásra. Ezen kívül nem volt lehetőségünk a közvetlenül mért biológiaiilag hozzáférhető (szabad) nemi hormonok OPG-re kifejtett hatásainak vizsgálatára, ezért számított szexhormon-indexeket használtunk a statisztikai elemzésekben.

A cisztatin C OPG-re kifejtett hatását akár lehet az osteoclastogenesis renális markerének vagy inhibitorának tekinteni, bár ennek mechanizmusát jelen tanulmányunk nem világítja meg, hangsúlyozzuk, hogy a cisztatin C fontos előjelzője az OPG szintek alakulásának.

Vizsgálatunkban bizonyítjuk, hogy az életkor, mint legerősebb előjelző mellett más módosító tényezők is jelentősen befolyásolják az OPG termelését, mint a cisztatin C, az FTI, és E2. Továbbá azt is, hogy a cisztatin C és OPG társulásának kapcsolata a kor előrehaladtával nyilvánvalóbbá válik. Végkövetkeztetünk, hogy a cisztatin C szignifikáns előjelzője az OPG szintek változásának függetlenül az életkor, FTI és E2 hatásaitól is.

### **5.3. A terhességi és laktációs tanulmány**

A csontanyagcsere-markerek vizsgálata a várandós nők csontrendszerében jelentős biológiai aktivitásra utal. Kimutatták, hogy az OC szintek az első trimeszterben a nem terhes nőkéhoz hasonlóak, a második trimeszterben csökkennek, majd a harmadikban visszatérnek a nem-gravid szintre. A mi anyagunkban a kiindulási értékek a szülésig csaknem duplázódtak és már a 22-24 gesztációs héten meghaladták az alapszintet.

Az irodalomban a BSAP-t az első trimeszterben alacsony szintűnek írták le, és később is alacsony maradt, mások szerint kisebb, vagy jelentősebb mértékben nőtt az utolsó harmadban. Saját méréseink a BSAP fokozatos növekedését mutatták a 22-24. hétig, majd gyors szintemelkedést a szülésig.

Irodalmi közlések a vizelet D-pyr szintjeit alacsonynak írták le az első trimeszterben, ezután gyors növekedést találtak az alapszint kétszereséig a harmadikban. Az általunk vizsgált páciensekben a 22-24. héttől a szülésig jelentős szintemelkedést mértünk.

Mások a PTH szinteket alacsony-normál sávban találták a várandósság mindhárom harmadában. Mi sem találtunk PTH emelkedést a terhesség teljes idejében.

Egy összefoglaló közleményben a szérum 25OHD szintjeit a harmadik trimeszterben szignifikánsan magasabbnak írták le a terhesség előtti értékekhez viszonyítva. Mi nem találtunk jelentős 25OHD szintkülönbséget a tanulmány vizitjein vett vérmintákban. Viszont a terhesség során fokozott csont turnover mutattunk ki hasonlóan Naylor és mtsaihoz. A harmadik trimeszterbeli fokozott turnover időben egybeesik az anyai csontrendszerből mobilizált kalcium növekvő transzportjával a magzatba, a csontképződés igénye szerint.

Tartós, egy évet meghaladó szoptatás kapcsán Sowers és mtsai kimutatták, hogy az OC és BSAP szintek tetőpontjukat szülés után 18 hónappal érik el. Saját vizsgálatunkban az OC a laktáció 6. hónapjában tetőzött (>144,6%), majd a 12. hónapban 62,5%-ra csökkent. Míg a BSAP szüléskor érte el tetőpontját és azt követően a kiindulási érték 146%-ára csökkent a laktáció 12 hónapjának végére. Hasznos lett volna egy mérés 18 hónap után is a további változási irányok megismerésére, de erre nem volt lehetőségünk.

A PTH szintek 50%-os, vagy nagyobb csökkenését írták le szoptató anyákban mind keresztmetszeti, mind pedig longitudinális vizsgálatokban. Saját adataink szerint a szoptatók PTH szintjei szignifikánsan emelkedtek szülés után 12 hónapig a kiindulási szinthez képest, de átlaguk a PTH referencia tartomány határain belül maradt.

A PICP szintek irodalmi közlések szerint csökkentek a második trimeszterben, majd a harmadikban emelkedtek. Az általunk nyert adatok szerint a PICP szintek a szülés időpontjáig csaknem 650%-ot emelkedtek és csak post partum 6 hónappal kezdtek csökkenni.

Tanulmányok közleményeiben a D-pyr szint 2-3-szorosára emelkedett a laktáció alatt, magasabbra, mint a terhesség harmadik trimeszterében. Az általunk vizsgált csoportban szignifikáns koncentráció növekedés történt szüléstől a szoptatás első hat hónapjának végéig.

Összefoglalva, leleteink mutatják, hogy a csontképzési markerek emelkednek a terhesség folyamán, az OC és PICP szintek a szülés utáni 6 hónapban is emelkedett szinten maradnak szoptató anyákban. A rezorpció markerei szintje pedig terhesség közepéig csökken, majd a szülésig emelkedik és a szülés után, a laktáció alatt kiindulási szintig csökken. Leleteink különbözősége másokétól részben kisebb vizsgálati számainkkal magyarázható. Emiatt mérési számunk néhány összehasonlításban nem volt elegendő kellő statisztikai erő adásához a különbségek tesztelésekor.

Vizsgálataink során nyilvánvaló csontvesztést találtunk, különösen hosszantartó laktáció alatt – ennek hosszútávú következményeit a szülők későbbi életére többen tanulmányozták. Két vélemény kristályosodott ki: az egyik szerint lehetnek késő következményei a csontegészségre, pl. fokozott csonttörési kockázat, mások többségi véleménye szerint a csontvesztés késői hatásait kompenzáló mechanizmusok kivédik, valójában a csontanyagcsere egyensúlya csak átmenetileg inoghat meg. A nők globálisan csökkenő szülésszáma ismeretében a kalcium- és csontanyagcsere azokban az egyéneknél, társadalmi csoportokban érdemel további vizsgálatot, ahol magas az egy nőre eső szülésszám.

Az anyai fokozott csont turnover erősen arra utal, hogy magzat és szoptatott csecsemő csontfejlődéséhez szükséges kalcium - legalábbis jórészt – az anyai csontrendszerből származik. A csúcs csonttömeg kialakulásának életszakasza részben egybeesik a terhesség és laktáció idejével, ezért feltételezhető, hogy szerepe van a csontállomány visszanyerésének biológiai folyamatában. A csontállomány várandósság és szoptatás alatti eseményeinek, a még nyitva maradt kérdéseknek további tanulmányozása indokolt.

#### **5.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata**

A globálisan forgalmazott nagyszámú különböző mérőrendszer eredményeinek összehasonlíthatósága valós igény a laboratóriumi medicinában. A klinikus partnerek joggal várják, hogy a különböző vizsgálóhelyeken más-más módszerekkel végzett mérések eredményei egy azonos mintában azonosnak, vagy statisztikailag értelmezhető közelségben legyenek. A tudományos közlések nemzetközi jellegét a klinikai medicina is leképezi, és szintén globális normákat igényel. Ennek tükrében vizsgáltam az értekezésemben szereplő analitikumok forgalomban lévő reagensinek és használatban lévő gépi analitikai rendszereinek néhány időszerű kérdését nemzetközi kitekintéssel.

##### **5.4.1. PINP**

Jorgensen és mtsai egy 2308 személyt bevonó nagy tanulmányban szérumban PINP összehasonlító méréseket végeztek IDS-iSYS és Roche Cobas analizátorokkal. Számításuk  $R^2=0,8573$  ( $p<0,001$ ) összefüggési együtthatót adtak PINP-re a két módszert összehasonlítva. A PINP referencia intervalluma nem különbözött jelentősen a két módszer használatakor nők és férfiak mintáiban.

Koivula és mtsai megvizsgálták a Roche Elecsys PINP assay és az Orion RIA mérési eredményeit 34 egészséges véréből szérumban, 39 veseelégtelenségben szenvedőben és 173 idős (>65 éves) ágyban fekvő betegen. A két módszerrel mért eredmények hasonlóak voltak, de az Elecsys assay szignifikánsan magasabb értékeket adott a hemodialízis programban lévő és az ágyhoz kötött idős betegek mintáiban.

Moravat és mtsai 828 személy – köztük gyermekek és csonttritkulásos betegek – szérumban vizsgálták a PINP szinteket Elecsys Roche és IDS iSYS módszerrel. A két assay mérési adatai nem-lineáris kapcsolatban voltak. Ráadásul a PINP alacsony (<100 µg/L) és magas (>670 µg/L) értéktartományokban az iSYS mérési adatai alacsonyabbak voltak, mint az Elecsys rendszeré. Cavalier és mtsai összehasonlították a szérumban PINP értékeit Roche Elecsys és IDS iSYS rendszerrel mérve egy CKD betegcsoportban. Megállapították, hogy a két módszer azokban adott leginkább eltérő eredményt, akiknek eGFR értéke <30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> volt.

Wheater és mtsai is összehasonlították a Roche Elecsys és IDS iSYS módszerekkel kapott szérumban PINP értékeket 72, ismert csontbetegség nélküli önkéntesben, és 55 reumatoid artritiszes (RA) betegen. A két rendszerrel mért értékek medián különbsége 2,0 µg/L (95% CI 1,3, 2,8), statisztikailag szignifikáns volt.

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a két automatizált PINP assay rendszer által mért értékek nagyon közel állnak egymáshoz egészséges személyekben, akinek eGFR értéke >30

mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, de szignifikáns eltérés mutatható ki az Orion RIA és a két automatizált rendszer által mért eredmények között. További munkát igényel e három mérési rendszer egységesítése és harmonizálása. A PINP molekuláris szerkezete, az intakt és totál PINP assayokban detektált további peptidek/fragmentumok módosító hatása miatt ez a folyamat nem lesz egyszerű jól definiált referencia-standard létrehozása. Ezekre tekintettel az IFCC/IOF közös szakbizottság véleménye szerint az előbbi helyett a PINP módszerek harmonizálása látszik reális célnak, melynek folyamatában a nemzetközi multicentrikus tanulmányokban kereskedelmi reagenscsomagokkal végzett mérések folyamatát és eredményeit a gyártó cégekkel együttműködésben elemzik.

Szintén szükséges klinikai irányelvek kifejlesztése egységes mérési referenciahatárokkal és terápiás célértékekkel. Egy PINP referencia módszer harmonizálása (esetleg standardizálása/egységesítése) GFR>60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> vesefunkciójú személyek számára kereskedelmi egységcsomagokkal, közös kalibrátorok és egységes referencia eljárások kifejlesztésével lehetséges. A jövőben bármely új assay rendszer kifejlesztését is az előbbieken vázolt, újonnan létrehozandó kalibrátorok és referencia módszerek alkalmazásával célszerű végezni.

### 5.4.2. $\beta$ -CTx

Jorgensen és mtsai korábban a PINP assay kapcsán idézett közleményében egy 2308 személyt bevonó tanulmányban, ahol az eGFR >30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> volt (1250 férfi, 1058 nő, életkor terjedeleme: 24-76 év) szérumban  $\beta$ -CTx összehasonlító méréseket végeztek IDS-iSYS és Roche Cobas analizátorokkal. Számításaikkal  $r^2=0,8924$  ( $p<0,001$ ) determinációs együtthatót kaptak  $\beta$ -CTx-re. Az átlagos mérési különbség 13  $\mu$ g/L volt és komplex rendszerhibát is találtak a két rendszer összehasonlítása során: a Cobas módszer magasabb mérési értékeket adott az alacsony koncentrációtartományban, míg a iSYS a magasabb koncentráció zónájában mért magasabbat. A szerzők következtetése szerint a két mérési rendszer közötti multifaktoriális különbség miatt a mérési adatokra nem alkalmazható egyszerű átszámítási faktor, következésképpen a két módszer harmonizációja nehezen kezelhető problémát jelent.

Chubb és mtsai EDTA plazmában 2 automata rendszerrel (Roche Elecsys és IDS iSYS) és egy manuális IDS ELISA assay alkalmazásával végzett  $\beta$ -CTx méréseket hasonlítottak össze 161, metabolikus csontbetegségben szenvedő személyből (119 nő, 42 férfi, medián életkor 65 év) vett mintákban. Jelentős proporcionális és szisztémás hibát is találtak, amikor az iSYS módszert akár az ELISA-hoz, akár az Elecsys módszerhez hasonlították. Meg tudták még erősíteni Jorgensen és tsai leletét is, miszerint az iSYS assay alacsonyabb  $\beta$ -CTx mérési értékeket



adott az alacsonyabb koncentráció zónájában és magasabban a felső mérési sávban, mint az Elecsys rendszer.

Wheater és mtsai 127 személy vizsgálata során szintén szignifikáns negatív rendszerhibát és pozitív proporcionális hibát találtak, amikor az iSYS rendszerben mért adatokat az Elecsys assay adataival hasonlították össze. A  $\beta$ -CTx értékek medián különbsége -30 ng/L volt.

Összefoglalva, az előbbi két tanulmány gyenge egyezést mutat a kereskedelmi forgalomban lévő két assay leletei között a  $\beta$ -CTx vérből történő mérése során. Mivel a mérendő  $\beta$ -CTx molekula (EKAHD- $\beta$ -GGR) szerkezete kellően ismert, egy referencia mérési eljárás a stabil, egy szintetikus  $\beta$ -CTx mérés standard használatával alkalmas lenne a vérből  $\beta$ -CTx mérésére gyártott kereskedelmi reagens egységcsomagok standardizálására. Az IFCC/IOF Joint Committee on Bone Metabolism célja ennek a folyamatnak felgyorsítása.

### 5.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány

Eredményeink mutatják, hogy elsődlegesen az ösztrogénhiányos panaszok csökkentésére alkalmazott transzdermális ösztrogén tapasz védhet a csontvesztés ellen posztmenopauzális SLE-beteg nőkben az ágyéki gerinc-csigolyákban és a combnyak állományában. A terápiás válasz hasonlított Kung és mtsai közléséhez, akik orális konjugált ösztradiollal végeztek terápiás tanulmányt. Más kutatók szerint kortikoszteroid terápian lévő betegek csonttömegét növelte a hormonpótló kezelés.

A legtöbb prospektív tanulmánynak, amelyek menopauzális hormonterápiát (MHT) alkalmaztak posztmenopauzális SLE-nőbetegek kezelésére, közös korlátja volt a résztvevők csekély száma. Saját vizsgálatunkban is hasonló a helyzet – az alacsony létszám korlátozta a levonható következtetéseket.

A hormonpótló terápia anti-rezorptív hatású, a csontforgalom markereinek csökkenését okozza a kezelés alatt. Tanulmányunkban a szérum  $\beta$ -CTx és OC szintek csökkentek az alapszinthez viszonyítva a kezelés időszaka alatt.

Kung és mtsai erősen csökkent OC szinteket mértek kiinduláskor, mi azonban nem. Továbbá nem találtunk különbséget a csoportokon belül a tanulmány időszaka alatt. Kung és mtsai nem találtak különbséget a két vizsgálati csoportjuk OC-szintjei között, mi viszont szignifikáns OC-csökkenést mutattunk ki az ösztradiol-csoportban a 12 hónapos viziten a placebo-csoporthoz viszonyítva. Az immunológiai paraméterek titerei fluktuáltak a vizitek során, azonban mindig a megfelelő referencia-határokon belül maradtak. Egy betegben sem észleltünk klinikai relapszust és nem növekedett az átlagos betegség-aktivitás sem.

Újabb MHT-tanulmányok eredményei megerősítették a kezelés hatására megnövekedett stroke-, emlőrák-, szív-érrendszeri betegség- és trombo-embolia kockázatot. Jelenleg is folyik a vita arról, hogy mekkora a szerepe a szövődmények kialakulásában az ösztrogén fajtájának és dózisának, alkalmazási útjának, az együtt adott progesztinnek és a páciens kockázati profiljának. Ismeretlen eredetű hüvelyi vérzés, emlőrák fokozott kockázata, endometrium carcinoma, endometriózis, magas vérnyomás, coronaria keringési zavar (ISzB), angina pectoris kizárták a MHT alkalmazást. Thrombophilia gyanúját felvető előzményi adat, V. faktor Leiden mutáció és koagulációs hajlamot fokozó prothrombin polimorfizmus megléte is kizáró körülmény volt. Az anti-cardiolipin, anti-beta2-glikoprotein antitestek és a lupus anticoagulans szintjeinek ellenőrzése rendszeresen megtörtént a tanulmány ideje alatt.

Mivel az APC rezisztenciát befolyásolhatja az ösztrogén terápia, ennek ellenőrzése is ismételten megtörtént. Bár az anti-fosfolipid antitestek jelenléte, emelkedett szintje tromboembolia kockázatot jelent, az SLE ezek hiányában is előidézhet trombo-emboliás eseményt. A tanulmány során két placebo-csoportba tartozó páciensben észleltünk szív-érrendszeri eseményt. Ez is felhívja a figyelmet arra, hogy ezek a páciensek beavatkozás nélkül is magas cardiovascularis, pl. atherosclerosis-kockázatot hordoznak.

A kiesési hányad magas volt, főleg a kezelés elején tapasztaltuk és többnyire a hormonkezelés ismert mellékhatásai okozták. Bár a terápiás adherencia jó volt, a MHT toleranciája nem volt kedvező.

Azt reméltük, hogy a “Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus National Assessment” (SELENA) randomizált kontrollált tanulmány (0,625 mg konjugált ösztrogén naponta és 5 mg medroxiprogesteron acetát havonta 12 napig) választ ad az ösztrogén és SLE kapcsolatának kérdéseire a biztonság és betegség-aktivitás terén. Azonban az NIH leállította a SELENA tanulmányt a WHI tanulmány eredményei miatt, így várunk kell még ezekre a válaszokra.

Alternatív hormonkezelés is szóba jöhet SLE-betegekben. A dehidroepiandrosteronról kimutatták, hogy stabilizálja, vagy csökkenti a betegség aktivitást, vagy a raloxifen, egy szelektív ösztrogénreceptor-modulátor, mely kedvezően hat a csontegészségre, a hagyományos MHT mellékhatásai nélkül. A transzdermális hormonkezelés kérdését érdemes megvizsgálni, amennyiben nagyobb résztvevői létszámmal indítanának multicentrikus tanulmányt. A bőrön át történő ösztrogén bevitel előnye, hogy megkerüli a hormon májban történő first pass átalakulását, alacsonyabb dózisok alkalmazásával érhető el azonos biológiai hatás és csökkenhet a first pass metabolikus lépés prothrombotikus hatása. Az SLE-betegek között gyakrabban találunk tromboembolia fokozott kockázatát viselőket. Emiatt

nehézségbe ütközik elegendő számú páciens bevonása egy ilyen randomizált kontrollált tanulmányba, az alacsony betegszám pedig a statisztikai erő ellen dolgozik.

## **5.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya**

### **5.6.1. A férfi T2DM tanulmány**

Ebben a keresztmetszeti, életkor szerint illesztett résztvevőkkel végzett eset-kontroll tanulmányban magasabb LS és FN BMD értékeket kaptunk 50 évnél idősebb, 2-es típusú cukorbeteg magyar férfiakban. Leleteink összhangban vannak korábbi tanulmányok adataival.

A csontforgalom biokémiai marker-szintjei alapján tanulmányunkban más vizsgálókkal egybehangzón csökkent turnover aktivitást mutattunk ki 50 évesnél idősebb nem inzulindependens cukorbeteg férfi népességi csoportban. A csökkent turnover kevesebb csontvesztéssel jár, ez magyarázhatja a BMD magasabb értékeit 2-es típusú cukorbetegekben.

Népességi szintű tanulmányokban BMD ellenére emelkedett törési kockázatot mutattak ki 2-es típusú cukorbetegekben. Több magyarázata lehet ennek az ellentmondásnak. Fokozott elesési hajlam a T2DM-betegek gyengébb látása miatt egyike ezeknek. Cukorbetegekben a denzitástól független csontminőség romlása bekövetkezhet a kortikális csontállomány finomszerkezeti szintjén, valamint csontfehérjék glikációjának zavara következtében.

A csípőtáji és jelentős (csigolya, alkar, csípő, felkar) törések 10 éves kockázatának mértéke ma már megállapítható a FRAX algoritmus alapján. A FRAX algoritmus listáján a klinikai kockázati tényezők között csak az 1-es típusú cukorbetegség szerepel a másodlagos oszteoporózisok egyikeként. Giangregorio és mtsai, valamint mások beszámoltak róla, hogy a FRAX alábecsüli a törési kockázatot mindkét cukorbetegségben és javasolták a diabetesz, mint önálló kockázati tényező integrálását a FRAX programba.

Bár az inzulin-kezeltek fokozott törési kockázatát több tényező és a betegség komplikált természete együtt adja, anyagunkban nem találtunk különbséget a FRAX-alapú százalékos kockázat szintjében inzulin-kezelt és nem kezelt T2DM-beteg férfiokban.

A D-vitamin szinteket illetően leleteink egybehangzanak legalább két korábbi tanulmányéval, amelyek 50 évnél idősebb T2DM-beteg férfiokban alacsonyabb D-vitamin szinteket találtak és magasabb BMI értéket okolták ezért. További oka lehet az alacsony D-vitamin szinteknek a T2DM-betegek gyakoribb idült vesebetegsége.

Tanulmányunkban elsőként számoltunk be egy 50 évnél idősebb T2DM-beteg férfi kohorszban megnövekedett BMD-ről, alacsony csont turnover-ről, és szignifikáns különbség hiányáról inzulin-kezelt és -nem kezelt alcsoportok között.

Összefoglalva, eredményeink az irodalmi adatokhoz hasonlóan arra utalnak, hogy a FRAX algoritmus alábecsüli a valódi kockázatot 2-es típusú cukorbeteg férfiakban, ami indokolja a cukorbetegségnek, mint önálló kockázati tényezőnek integrálását a FRAX algoritmusba.

### **5.6.2. A férfi PsA tanulmány**

Ebben a keresztmetszeti, korban illesztett tanulmányban a D-hipovitaminózis kontrollokénál magasabb prevalenciáját mutattuk ki arthritis psoriatica betegségben szenvedő férfiakban. Leleteink egybevágóak egy korábbi tanulmány eredményeivel, amelyben pikkelysömörös (de nem artritiszes) férfiak és nők körében gyakoribb volt a D-hipovitaminózis prevalenciája, mint az egészséges kontrollokban. Másik tanulmányban nem találtak alacsonyabb D-vitamin szinteket pikkelysömörös artritiszes és nem artritiszes betegekben. Nem találtunk irodalmi adatot, amelyben hozzánk hasonlóan vizsgálták a D-vitamin ellátottságot PsA-beteg férfiakban illesztett kontrollcsoporttal összehasonlítva. A PsA-beteg vizsgálati csoport csökkent D-vitamin szintjeit magyarázhatja életmódbeli korlátozottságuk. Bőrbetegségük tünetei és ízületi fájdalmaik miatt kevésbé vehetnek részt szabadidős fizikai tevékenységben, emiatt napfény-expozíciójuk is kevesebb lehet, mint a kontrollcsoporté.

A csontforgalom biokémiai markerei alapján tanulmányunk alátámasztja a fokozott turnover-t PsA-betegek körében. A fokozott csontátépülés magyarázhatja a nem szignifikáns, de tendenciózus BMD csökkenést vizsgálati betegcsoportunkban. Irodalmi közlésekben nem egységes a BMD-értékek változásának bemutatása PsA-ban.

Nemrégiben megnövekedett törési kockázatról számoltak be PsA-betegekben. A fokozott turnover alacsony D-vitamin szintekkel kombinálva magyarázhatja ezt a leletet.

Tanulmányunk korláta, hogy a kontroll személyek kiválasztásához nem állt rendelkezésünkre népszéki regiszter, ezért egészséges önkéntesek toborzásával képeztünk kontrollcsoportot, akiket azonos besorolási/kizárási feltételek alapján szűrtünk és választottunk ki. A Debrecen környéki lakosságot demográfiai szempontból az ország népszéki reprezentánsának tekintettük. Táplálkozásukban a tejtermékek, tojás és halak tartalmaznak D-vitamint. Az élelmiszerek általában Magyarországon nem tartalmaznak hozzáadott kiegészítőket és Európában sincs egységesen követett fortifikációs irányelv. Egyébként nehéz pontosan meghatározni az étellel bevitt és napfény hatására képződött D-vitamin mennyiségét. A

25OHD mérése ad közvetlen információt az ellátottságról, de vérszintjét befolyásolja az életkor, napfény-expozíció, étrenddel, vagy pótlással bevitt D-vitamin mennyisége.

A résztvevők viszonylag kis számát tekintjük tanulmányunk fő korlátjának, de tudomásom szerint mienk az irodalomban közölt az egyik legnagyobb létszámú férfi pikkelysömörös artritiszes betegcsoport, amelyben közöltük a D-hipovitaminózis növekedett prevalenciáját, egyidejűleg a csont turnover fokozott voltát illesztett kontrollcsoporthoz viszonyítva.

Tanulmányunk eredményei mutatják, hogy a PSA-beteg férfiak 25OHD szintje alacsonyabb, mint az illesztett kontrollcsoporté és a következményes hátrányokat fokozza az egyidejűleg igazolható fokozott csontforgalom, következményes csontvesztéssel.

### 5.6.3. A PSA-pQCT tanulmány

Ez a tanulmány a csontdenzitás és FRAX-alapú törési kockázatbecslés vizsgálatát helyezi középpontba. A korábban tárgyalt módszerek mellett pQCT méréseket végeztünk a csont volumetrikus denzitásának meghatározására.

Mind a "területi", mind pedig a volumetrikus ásványianyag sűrűség szignifikánsan kevesebb volt, betegeinkben a kontrollcsoportéhoz képest. Több más szerző is alacsonyabb csontdenzitásról (aBMD) számolt be. Mások viszont nem tudták az alacsony aBMD-t igazolni. Az eltérő leletek oka az alkalmatlan összehasonlító csoport lehet. Saját mérési adataink az FN és LS területeken szignifikánsan korrelálnak a betegség tartamával, hasonlóan más szerzőkéhez.

A pQCT-vel mért ásványi denzitásról Kocijan és mtsai közöltek adatokat. Szerintük a trabekuláris állomány denzitása szignifikánsan csökken a kontrollokhoz képest, de a kortikálisé nem. Leleteink ettől eltérnek, mi ugyanis csökkent denzitást kaptunk mind a trabekulátáris, mind a kortikális állományban. A különbség pácienseink idősebb életkorával, valamint a PSA-juk és artritiszük fennállásának hosszabb időtartamával magyarázható.

Tanulmányunk az irodalomban elsőként hasonlított össze PSA-betegekben az aBMD-t és a volumetrikus denzitást, és igazolt szignifikáns korrelációt a két módszerrel kapott eredmények között, hasonlóan két másik tanulmányéval, amelyekben gyulladási reumatikus betegségben szenvedő pácienseket vizsgáltak.

Mi szignifikánsan megnövekedett 10 éves törési kockázatot számítottunk PSA-betegeinkben FRAX-módszerrel, mind a csípőre, mind pedig az összes jelentős törésfajtákra. Korábban nem közöltek adatokat oszteoporotikus törések FRAX-módszerrel számolt kockázatáról PSA-betegekben. Számításaink összhangban vannak mások leleteivel, akik az oszteoporotikus törések bekövetkeztét vizsgálták elsődleges végpontként és a patológiás törések

nagyobb esélyét, valamint az összes törés magasabb kockázatát állapították meg PsA-betegekben. Egy spanyol keresztmetszeti tanulmány az oszteoporotikus törések nagyobb prevalenciáját közölte posztmenopauzális PsA-betegekben. Egy brazil tanulmány előjelző értékűnek találta kistraumas törésekre a betegség hosszabb fennállását. Egy olasz vizsgálat viszont nem talált különbséget az oszteoporotikus törések prevalenciájában beteg és kontrollesoport között.

A 10 éves oszteoporotikus törési kockázat ismert tényezőin túl, mint az életkor és BMD, leleteink szerint PsA-ban a DAS28 szerinti erősen fokozott betegség aktivitás szintén említést érdemlő tényező. A FRAX módszerrel és radius volumetriás denzitásméréssel végzett törési kockázatbecslés kiváló alternatíva lehet FN BMD mérési probléma esetén, pl. kétoldali teljes csípőprotézis vagy súlyos coxarthrosis esetén. Bár pácienseink oszteoporotikusnak minősültek a FN aBMD alapján, a volumetriás mérések jelentősen nagyobb számú betegben mértek alacsony ásványianyag sűrűséget (34% vs. 88%,  $p < 0,001$ ). A két mérési mód eredményei közötti megegyezés hiányát Marshall és mtsai is igazolták.

A FRAX módszer több páciensben igazolta az oszteoporózis elleni kezelés indokoltságát, mint a FN területén mért aBMD ( $n=8$  vs.  $n=6$ ). Az FRAX intervenciók határokat elérő 10 éves törési kockázat mértéke, azaz csípőre:  $\geq 3\%$  ( $n=1$ ); összes jelentős törésre:  $\geq 20\%$  ( $n=8$ ) volt. A FRAX által minősítettek kivül a DR volumetriás denzitometra további személyeket azonosított oszteoporotikusként. A FRAX eszköz lehetőséget ad a FN aBMD mérési értékének bevitelére. Ennek a lehetőségnek gyakorlati haszna növekedhetne a törési kockázat pontosabb becslésében, ha a volumetriás BMD értékeket is befogadná a rendszer, valamint a diagnosztizált PsA-t, mint másodlagos kockázati tényezőket.

A FRAX módszert 40 – 90 év közötti életkorúak törési kockázatbecslésére fejlesztették ki, ennél a határnál fiatalabbakra legitim módon nem alkalmazható. A 40 évnél fiatalabb PsA pácienseink ( $n=18$ ) közül 3 személy (17%) FN aBMD értéke és 16 személy (89%) DR volumetriás BMD értéke esett az alacsony denzitás (osteopenia) határértéke ( $T\text{-score} \leq -1$ ) alá. Megfigyelésünk azt sugallja, hogy a volumetriás BMD mérés biztosabban azonosítja a fokozott törési kockázatú személyeket és lehetőséget teremt kockázatcsökkentő beavatkozásra fiatalabb korosztályban is. Valószínű, hogy egyedül az aBMD mérés általában alábecsüli a valódi törési kockázatot.

A Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő támogatja az oszteoporózis terápiáját azok számára, akiknek BMD T-score értéke  $\leq -2,5$ , vagy a FRAX becslés szerinti 10 éves kockázata  $>3\%$  a csípőtörésre és  $>20\%$  az összes jelentős kistraumas törésre. Eredményeink szerint nagy számú oszteopéniás és oszteoporotikus beteg nem kapja meg a törési

kockázatot csökkentő kezelést, ha csak az a BMD mérési eredményt veszik figyelembe FRAX kockázatbecslés nélkül.

Vizsgálatunkban a csontforgalom biokémiai markereinek emelkedett szintjei eg PsA betegekben a turnover fokozódására utal, összhangban a korábbi tanulmányunk adataival. Grisar és mtsai jelentősen magasabb  $\beta$ -CTx szinteket közöltek egy PsA-beteg csoportban, mint egészséges kontrollokban. Szentpetery és mtsai korrelációt találtak a csontforgalmi-markerek és a BMD között. Borman és mtsai korrelációt állapítottak meg a  $\beta$ -CTx és az arthritis időtartam között, de nem találtak különbséget a csontmarkerek szintjeiben. Saját anyagunkban nem találtunk korrelációt a csontmarkerek és egyéb paraméterek között. A csontforgalmi markerek változatos szintjeiről írtak Jadon és mtsai összefoglaló közleményt.

A D-hipovitaminózis betegeinkben megfigyelt magas prevalenciája egyezést mutat mások korábbi leleteivel. PsA-betegek fokozott hajlamát D-hipovitaminózisa valószínűleg bőrtünetek miatti szégyenérzetük és mozgásbeli nehézségeik miatt csökkent fizikai tevékenységük, szabad levegőn, napfényen kevesebb időtöltésük okozza.

Bár tanulmányunkban korreláció-vizsgálattal nem tudtuk alátámasztani - feltételezhető, hogy a D-hipovitaminózis, a fokozott csont turnover és az alacsony denzitás hozzájárulhat a nem-traumás csonttörések fokozott esélyéhez ebben a betegcsoportban.

Tanulmányunk következtetéseit korlátozhatja, hogy a kontrollszemélyek kiválasztása nem hagyományos módon történt. Leleteink érvényességét nagyobb vizsgálati létszámú tanulmányban kellene megerősíteni. A vizsgálati személyek korlátozott számából adódó statisztikai hátrányt ellensúlyozni szándékoztuk PsA pácienseink állapotának többoldalú elemzésével a számított 10 éves törési kockázat, a magas D-hipovitaminózis számarány, az alacsony csontdenzitás és a fokozott csontforgalmi aktivitás kombinált bemutatásával egy keresztmetszeti modellben.

Bár még hitelesítésre vár, a volumetriás BMD-meghatározás a hagyományos aBMD mérésekkel és FRAX-alapú törési kockázatbecsléssel kiegészítve ma is alkalmazható eszköz a PsA-beteg populációban a magas töréskockázatú egyének költségghatékony azonosítására és törésellenes preventív kezelésére.

### **5.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin**

Útalok a VDSP nemzetközi együttműködési programra, melyben számos ügynökség, intézetek és egyetemek vesznek részt, és amelyet a US-NIH Étrendi Kiegészítők Hivatala koordinál. A VDSP eredeti célja a 25OHD laboratóriumi mérések egységesítése volt nemzeti egészség- és táplálkozásfelmérő programokban világszerte. Két fő protokollt hoztak létre, egyiket a jelenleg és a jövőben használt 25OHD-mérések egységesítésére, másikat a korábbi tanulmányokban végzett 25OHD mérések eredményeinek retrospektív egységesítésére.

Cashman és kollégái a 2008-2010 között folytatott Irish National Adult Nutrition Survey archivált szérumszámításból végeztek 25OHD újramérést a VDSP protokoll javaslatára szerint LS-Tandem MS módszerrel. Sempos és mtsai korrigálták a korábbi D-vitamin-felmérés adatait, ahol a standardizáció lehetetlennek bizonyult, a felmérés időpontjában érvényes DEQAS ALTM korrekciót alkalmazták. Sarafin és társai a Canadian Health Measures Survey 25OHD mérési adatait standardizálták. Első lépésben az eredeti plazmamintáknak megfelelő szérumszámításokat mérték jelenleg forgalmazott immunoassay módszerrel. Másodszor, a NIST és Ghent referencia-laboratóriumok által adott 50 ismert 25OHD-koncentrációjú szérumszámítást elemeztek jelenleg forgalmazott immunoassay módszerekkel.

Cashman és társai a VDSP protokollt alkalmazták négy skandináv népességi felmérési mintából származó 25OHD értékek standardizálására. Az archiv biobank szérumszámításokat újra mérték LC-MS/MS módszerrel és egy kalibrációs egyenletet képeztek a régi és új 25OHD adatok átváltására.

Tanulmányunk korlátja, hogy vizsgálatunkban 6 éves, -70°C-on tárolt mintákkal dolgoztunk és ez közvetett eljárásnak tekinthető. Ezen kívül szükségesnek látjuk saját eljárásunk mérési torzításainak (bias) folyamatos monitorizálását a NIST célérték szempontjából minden DEQAS felmérésben.

Nem egyszerű feladat hátrányos helyzetű intézetekben a VDSP irányelvek betartása. Magyarországon nem ismert olyan laboratórium, amelyben a javasolt referencia módszerrel mérik a 25OHD szinteket rutin diagnosztikai, vagy kutatási céllal. Jelentős anyagi teherrel jár az eltett minták újramérése LC-tandem MS módszerrel, emellett a személyzet munkaterhelése is jelentős. Másrészt a DEQAS program részvételi díja méltányos és a programban megkapott NIST teljes célérték vonzó lehet a résztvevő laboratóriumok számára, mert kényelmesen lehetővé teszi a 25OHD mérési adataik korrekcióját. Saját egyszerű megközelítésünk a 25OHD értékek standardizációjára, hogy a DEQAS felmérés eltérését használjuk a NIST teljes célértéktől, ezáltal a nyers adatok azonnali korrekciójára és kiadására nyílik lehetőség – ez más



laboratóriumok számára is javasolható eljárás. Megközelítésünk akár kiegészítheti a VDSP protokollt és alternatívát jelenthet, amíg kereskedelemben elérhetőek lesznek olyan reagenscsomagok, amelyek a NIST koncentrációnak megfelelő értékeket mérnek adott hibahatárokon belül, bármely mintában.

Javaslatom könnyen alkalmazható a 25OHD mérési értékekre rutin diagnosztikai laboratóriumban, a mérések elsődleges színhelyén, amely gyakorlati megoldást jelenthet a nem-egységesített 25OHD mérési adatokat körülvevő anomáliákra.

### **5.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya**

A D-vitamin ellátottság vizsgálata pontos módszerekkel nélkülözhetetlen a hiányállapot felismerésére és a pótlás hatékonyságának ellenőrzésére. A VDSP és a CDC VDSCP szakmai szervezetek a közelmúlt években sikeres erőfeszítéseket tettek a vizsgálati módszerek egységesítésének előmozdítására. Valamennyi standardizációs törekvés a Stöckl és mtsai által kifejlesztett analitikai teljesítményspecifikáció (APS) módszerén alapul, amelynek alkalmazását az összes klinikai laboratórium számára ajánlották és amelyet az 1999-es laborszakmai Stockholm Consensus Conference támogatott. Azóta azonban egy új, egyszerűbb megközelítést javasol az EFLM az APS meghatározására a következő három modell használatával: [1] – a klinikai kimenetel, [2] BV, és [3] a korszerű teljesítmény (meghatározás).

Mi megvizsgáltuk a 2. számú modellt, és az 1. számút is azért, hogy teszteljük, milyen APS kell a 25OHD koncentráció egy hét, vagy három hónap során bekövetkező jelentős, vagy nagyon jelentős változásának kimutatásához.

Ezen a területen elsőként az irodalomban, két fontos megállapításra jutottunk.

Először rámutattunk, hogy a hagyományos úton képzett és a BV-re alkalmazott adatok nem alkalmazhatók a 25OHD-re. Valóban, vizsgálatunk igazolta, hogy a 25OHD koncentrációknak nincs állandó állapota az idő folyamán, és hogy bármely modell alkalmazása, amely egy homeosztatisz állandó érték körüli random variációra épül, megalapozatlan. Ez a megállapítás nyilvánvalóan tűnhet, mivel évtizedek óta tudjuk, hogy a 25OHD koncentrációk nyáron magasabbak, mint télen, de mi elsőként mutattuk ki ezt a változást egy egészségesnek tekinthető kohorszban.

Ebből következik, hogy másik APS meghatározása szükséges a 25OHD vizsgálatra. Közleményünkben javasolt megközelítés a mérési bizonytalanság (measurement uncertainty, MU) használata.

Az ISO 15189 szabályzat 5.5.1.4 fejezete előírja a laboratóriumok számára a standard MU megállapítását minden mérési eljárásra a vizsgálati fázisban és használatukat a páciens minták mennyiségi leleteinek közlésekor. Az MU magába foglal a szisztémás hatásokból származó összetevőket. A betegellátás szintjén a laboratóriumi adatok rendszerint egyetlen mérést jelentenek és az MU minden összetevő komponensével nem lehet korrekciót végezni.

A közleményünkig nem publikáltak a 25OHD –re vonatkozó APS javaslatokat az MU-ra. *Ezért a jelen munkánk második pontjaként APS leírást javasolunk MU-ra 25OHD koncentrációk időtől függő élettani variációjára alapozva.* Eredményeink szerint európai népességben a 25OHD koncentráció tavasz folyamán heti 2,8%-ot növekedett és 10 hét elteltével az emelkedés elérte a 31,6%-ot. Egy Liége-ben (50,57° É, 5,57° K) folytatott klinikai vizsgálat placebocsoportjában (n=48) összesen a koncentrációk átlag 39,6%-kal csökkentek, ami a saját anyagban közöltekkel közel azonos érték. A 25OHD szintek időfüggő variációjának kimutatása új szereplő lehet ezen analitikum vizsgálati módszereinek értékelésében. Következésképpen javasoljuk, hogy magasabb szintű referenciamódszerekben MU<1,2% legyen, a “rutin” eljárásokban pedig <13,6% ahhoz, hogy különbséget igazolhasson két mérési eredmény között  $p<0,05$  szignifikanciaszinten és 9,6% legyen a  $p<0,01$  szignifikanciaszinthez. Ez utóbbi APS érdekes módon csaknem azonos a CV<sub>A</sub>-hoz rendelt APS 10%-os értékével a VDSP-ben.

Az EQAS nem képes az egész MU értékelésre. A pontosság-alapú EQAS magasabbszintű (referencia) célkoncentrációkat ad meg az anyagaira, amelyek mérési/rendszerhibák értékelésére használhatók. Ez továbbra is az alkalmazás indoka marad, legjobb esetben a módszer valódi hibáinak vizsgálatára. Gyakorlatilag az MU-t az EQAS üzemeltetői és a CDC VDSCP is megadhatja a módszerek minőségi tanúsítványában. A VDSCP MU%-érték, amelyet a CHU de Liége minősített LCM-MS/MS módszerével számoltak a 25OHD koncentrációkra 40 minta mérési adataiból 5,9% volt, ami nagyon közel esik a fentebb leírt <6,2%-os APS értékhez. Az általunk használt DiaSorin módszer MU-értéke 2019-ben 16,3% volt, kissé alacsonyabb, mint a DiaSorin használók medián értéke, de magasabb, mint az általunk rutin módszerekre javasolt <13,6%-os MU. Végül, a Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS) tanácsadó testülete a közelmúltban javasolta, hogy a szolgáltató közölje az MU %-ot a programban résztvevő laboratóriumok számára kiküldött minden minta célértékére az alkalmazott RPM-módszere szerint. A kombinált átlagos bizonytalanság a 2020 áprilisában kiosztott minták (No. 571-575) mérésében 1,3%-v volt, ami teljesen megfelel az MU APS mintasor általunk javasolt szintjének.

Vizsgálataink korlátjaként megemlítem, hogy az itt javasolt APS Európa egyes régióiban élő népességi minták adataiból képződött, és kérdés, hogy kiterjeszthető-e ettől jelentősen különböző rassz/etnikai jellemzőjű populációkra. Alkalmaztunk még egy

immunoassayt a VDSP által minősített LC MS/MS módszeren kívül a minták vizsgálatára több indokolható okból, pl. a rendelkezésre álló minták mérete, alkalmassága hosszantartó vizsgálati procedurára. Az így vizsgált minták többségét LC MS/MS módszerünkkel is lemértük és kiváló korrelációt igazoltunk. Ebből arra következtettünk, hogy bemutatott adataink minőségére az analitikai módszerek csekély befolyása volt.

Egyedülálló tanulmányunk, amely az IFCC Committee on Bone Metabolism (C-BM) egyik szakmai állásfoglalását alapozta meg, bizonyítja, hogy a nemzetközi klinikai laboratóriumi közösség által javasolt APS, melyet Stöckl és mtsai több mint egy évtizede dolgoztak ki, tovább fejleszthető az MU integrálásával. További vizsgálatok erősíthetik meg, hogy ezek a változtatások segítenek-e javítani a D-vitamin mérések pontosságát és megbízhatóságát. Gazdasági vonatkozása is van ezeknek a vizsgálatoknak – az igazolt hiányos D-vitamin ellátottság intézkedéseket indíthat a kívánatos 25OHD koncentrációk elérésére népegészségügyi szinten.

### **5.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról**

A földrajzi szélességre vonatkozó leleteket nehéz tolmácsolni. A bőrszín jelentősen befolyásolja az UVB biológiai hatását, ezen kívül az életmód, táplálékösszetétel (pl. Európában zsíros halak fogyasztása) és az öltözék jellege hasonlóan modulálja a szoláris UVB hatására képződött 25OHD koncentrációkat. További tényező a kisebb szélességi fokon élők esetében a hőség. Emiatt az emberek napközben többnyire a lakásukban tartózkodnak. A bőr pigmentációja csökken magasabb szélességi fokon, ami fokozza a D-vitamin képződését. Nyáron a nappalok hosszabbak magasabb szélességi fokon és hosszabb expozíciós időt engednek az UVB sugárzásnak. Ezek ismeretében, a földrajzi szélesség csekély hatással lehet a D-vitamin ellátottságra.

Az első nagy ökológiai tanulmány, amely az étrendi tényezők és a rák-gyakoriság összefüggését vizsgálta, Armstrong és Doll munkája volt. A tanulmányt kiterjesztették és eredményeit megerősítették egy újabb publikációban, emellett a közlemény inspirációt adott az első tanulmány végzésére az Alzheimer kór (AD) kapcsolatáról makroétrendi tényezőkkel, köztük a hal fogyasztásával. Ez a közlemény sarkallta a Columbia University kutatóit vizsgálat végzésére az étrend és AD kockázat kapcsolatáról. A legújabb tanulmány szerint a hús a legfontosabb kockázati tényező.

Tanulmányunk kétségbe vonja a feltételezést, miszerint a szérum 25OHD koncentrációk közvetlenül függenek a napsugárzás UVB dózisától, vagy a földrajzi szélességtől, mint azt a rák esetében sugallták. Ez a feltételezés helytálló lehet egyetlen országban végzett tanulmány esetén,

viszont több országban a 25OHD koncentrációkról végzett vizsgálat esetén a szoláris UVB mellett a bőrpigmentációt, esetleg az öltözködéstípust és egyéb módosító tényezőket is tekinteni kell.

Többen vizsgálták a 25OHD mennyiségét állati eredetű élelmiszertermékekben. Ezt általában nem veszik figyelembe az étrendi D-vitamin felvételt vizsgáló humán tanulmányokban. Jelen tanulmány azonban nem tudta megerősíteni a húsfogyasztás és a magas 25OHD koncentráció kapcsolatát. A halakat illetően egy meta-analízis szerint a 25OHD szintek zsíros halat fogyasztókban 7 nmol/L-el (95%-os CI : 4-10 nmol/L) magasabbak, és ez figyelemre méltó.

Tanulmányunk leletei szerint a D-vitamin ellátottságot csökkentő már eddig is ismert tényezőkhöz túl további hatásokkal kell számolnunk, mint például a különböző régiókban kialakult étrendi szokások, amelyeknek fontos szerepe lehet a D-hipovitaminózis gyakoriságának alakításában különböző népességi csoportokban, mint az idősek, gyermekek, valamint a várandós nők.

A 25OHD vérszintek mérése és a kívánatos érték visszatérő kérdés. A kereskedelmi forgalomban beszerezhető mérési készletek rendelkezésre állnak, de a különböző módszerekkel mért 25OHD értékek egységesítése máig komoly kihívás maradt. Az 50 nmol/L feletti koncentrációk a csontegészség szempontjából megfelelők lehetnek, a csontrendszeren kívüli számos javasolt hatás eléréséhez 75-100 nmol/L vérszintet tartanak szükségesnek. Különböző megközelítésből a kutatók a magasabb 25OHD koncentrációkhoz járulékos egészségnyereséget társítottak különböző betegségek kedvezőbb kimenetele, vagy megelőzése révén, köztük a rák, légúti fertőzések, valamint a terhességek és szülések kedvezőbb kimenetelét, pl. csökkent koraszülési esély által. Adatokat közöltek ezen kívül a napi 2000-4000 NE D3 vitamint kapott személyekben egyes betegségek csökkenő incidenciájáról.

Tanulmányunk korlátjaként említem, hogy 15 országból származó 25OHD koncentrációk adatait használtuk és ezek változtak az országok szerint. Az étrendi adataink csak megközelítések a 25OHD-mérésre mintát adók valódi fogyasztási profiljához képest és nem veszik figyelembe fel nem használt ételvesztéseket.

Korábbi kutatások szerint a 25OHD koncentrációk számos igazolt és valószínű ok miatt viszonylag alacsonyak a MENA régióban és Dél-Európában. Saját tanulmányi adataink szerint a táplálkozási szokások csekély szerepet játszhatnak a D-hipovitaminózis létrejöttében a Közel-Keleti régióban. A számos régióban igazolt alacsony szérumszintű 25OHD koncentrációk emelése viszont fontosnak látszik, ennek elérésére népességi szintű beavatkozás szükséges.

### 5.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány

Az itt áttekintett adatok alátámasztják a magasabb 25OHD koncentrációk szerepét az akut légúti fertőzés (ARTI)-esetek és következményes halál kockázatának csökkentésében, köztük az influenza, CoV és pneumonia vonatkozásában. Az ARTI-k csúcsszezonja általában a legalacsonyabb 25OHD-szintek időszakára esik. Ebből következik, hogy a D<sub>3</sub>-vitamin pótlást hónapokkal a telet megelőzően kell kezdeni, hogy az ARTI-k megelőzéséhez elvárt 25OHD koncentráció-zóna kialakulhasson. Az itt szemlézett tanulmányok szerint általában 50-75 nmol/L 25OHD-szintek már csökkentették a az ARTI-k kockázatát. Bár a védelem mértéke általában növekszik a 25OHD koncentráció emelkedésével, optimálisnak a 100-150 nmol/L sávot tekintik. Különböző telítő dózisokat vizsgáltak, mennyivel érhető el a 75 nmol/L koncentráció. Egy tanulmányban 100 000-200 000 NE össz-dózist adtak 8 hét alatt (1800, vagy 3600 NE/nap). A 100-150 nmol/L szint eléréséhez azonban magasabb dózis szükséges, pl. napi 10 000 NE egy hónapig a keringő 25OHD szintjét a 100-150 nmol/L sávba emeli. Ennek a szintnek a megtartásához a telítést célzó első hónap után a napi dózis 5000 NE-re csökkenthető. Nagy dózisu D-vitamin adása alatt a kalciumpótlást le kell állítani a hiperkalcémia kockázatának csökkentésére.

Más tanulmány a D-vitamin telítő összedagjaként 200 000 – 3000 000 NE mennyiséget javasol a COVID-19 fertőzés kockázatának és súlyosságának csökkentésére.

Egy közelmúltbeli közlemény Új-Zélandból 5 110 résztvevő 100 000 NE havi dózissal átlag 3,3 évig folyt kezeléséről számolt be, amely nem növelte a vesekő-képződés és a hiperkalcémia incidenciáját.

A legtöbb országban nem fejlesztettek ki irányelvet a D-vitamin-pótlás adagjairól és a kívánatos 25OHD koncentrációkról. A szakmai ajánlások több országban a 50 nmol/L célértéket megfelelőnek tartják. Újabban több D-vitamin-pótlással kapcsolatos hosszútávú tanulmány eredményei emelt dózissal egészségnyereséget igazoltak káros mellékhatások nélkül pl. a napi 2 000 NE D<sub>3</sub>-vitamin rák-kockázatot csökkentő hatása, és 4 000 NE napi adag prediabetes-diabetes átmenetet késleltető effektusa.

Egy közelmúltban publikált referátum a D-vitamin-hiány globális állapotáról nyilatkozta, hogy a klinikai vizsgálatok elégtelen bizonyítékai miatt “az >50 nmol/L 25OHD-szint az elsődleges kezelési cél, bár némely adat magasabb közbérték előnyét állítja”. Ugyanabban a folyóiratban egy másik cikk szerint “bár a 50 nmol/L szint megfelelőnek látszik a vázrendszeri problémák és az ARTI események csökkentésére, a 75 nmol/L feletti szintek a rák-, 2-es típusú cukorbetegség- és kedvezőtlen terhességi/szülészeti események csökkent kockázatával társultak”. Számos, nemrég publikált és általunk is hivatkozott közlemény, és pl.

szakmai ajánlás az emlő- és kolorektális rák megelőzésére a kívánatos koncentrációt legalább 100-150 nmol/L-nek adja meg. Az Egyesült Államokbeli Institute of Medicine (IoM) 2011-ben D-vitamin-pótlásra 600 NE napi adagot javasolt a 70 évnél fiatalabbaknak, 800 NE/nap dózist a 70 évnél idősebbek számára, szérum célkoncentrációnak pedig 50 nmol/L-t, vagy magasabbat. Az ajánlást a D-vitamin csontegészségre kifejtett hatása alapján határozták meg, de a felső beviteli határt 4 000 NE/nap szinten határozták meg, részben azzal indokolva, hogy megfigyeléses tanulmányokban U-alakú viszonyt állapítottak meg a 25OHD koncentrációk és az egészség-hatások között.

Az Endocrine Society (ES) 2011-ben adta közre javaslatát 1 000 - 4 000 NE D-vitamin pótlására, amellyel elérhető a 30 ng/mL, vagy magasabb 25OHD koncentráció. Ezeket az adagokat D-vitamin-hiányos betegek számára javasolták, de úgy tűnik, hogy számos krónikus egészségprobléma esetén is érvényes a javallat. Az érvényes magyar ajánlás összhangban van az ES ajánlásával. Máiig tart a vita a két szakmai társaság között arról, hogy mekkora 25OHD koncentráció szükséges a PTH-szintek emelkedésének megállításához, vagy az emelkedett koncentráció csökkentéséhez. Az IoM állítja, hogy ez a határ 50 nmol/L, mint élettani határérték, az ES szerint  $\geq 75$  nmol/L.

A 25OHD koncentráció mérése hasznos a kiindulási szint meghatározására és az elért szintek igazolására. További közlemény a rendszeres mérést az ismerten alacsony koncentrációjú lakossági csoportokban javasolja, mint a várandósok, túlsúlyosok, krónikus betegek és az idősek. A mérések végzésének további haszna lehet a magasabb 25OHD szintekhez kapcsolódó egészségnyereség tudatosítása. A D-vitamin dózison túl befolyásolhatják a 25OHD koncentráció növekedését D-vitamin-pótlás hatására például egyedi genetikai tényezők, az emésztőszervek egészségi állapota, testsúly, és a kiindulási szint. A D-vitamin-pótlás 75 nmol/L vérszint eléréséhez a korábban felsorolt számos lakossági csoport számára ajánlott, különösen télen és tavasszal. Kimutatták, hogy az élelmiszerek, mint a tejtermékek és a liszt fortifikációja D-vitaminnal a legalacsonyabb 25OHD szintű személyek esetében csak csekély mértékben emeli a kiindulási koncentrációt, ezzel azonban mégis elérhető az ARTI-esetek kockázatának csökkentése súlyosan D-vitamin hiányos személyekben.

A D-vitamin-pótlással egyidőben magnézium adása is javasolt, ami segíti a D-vitamin aktiválását, ezen keresztül támogatja a kalcium és foszfát homeosztázist, általa jótékonyan befolyásolja a csontok növekedését és anyagcsere-egyensúlyát. A D-vitamin metabolizmusában szereplő valamennyi enzim számára szükséges a magnézium, pl. kofaktorként hat a májban és vesében lezajló enzimatikus folyamatokban. A magnézium napi adagja 250-500 mg, a szintén szükséges kalcium dózisa ennek kétszerese (500-1000 mg/nap).

A csontegészség megtartásához szükséges napi 1000-1500 mg kalcium bevitele elsősorban táplálékkal, a kiegészítő pótlás pedig inkább-citrát formájában történjen. A csontok egészsége érdekében ezeken túl elegendő fehérje bevitele is szükséges, különösen idősek számára (~1 g/tskg/nap).

A D-vitamin pótlás feltételezett kockázatsökkentő hatását az influenza és COVID-19 incidenciára és halálózásra olyan tanulmányokban kell vizsgálni, amelyek meghatározzák a hatásos D-vitamin adagokat, a szérum 25OHD célkoncentrációt és a lehetséges biztonsági tényezőket. A D-vitamin adás hatásáról Atlantában lélegeztetett intenzív osztályos betegeken végzett randomizált kontrollált tanulmány (RCT) jó modell lehet erre.

Egy közelmúltban megjelent összefoglaló közlemény szerint: "Bár ellentmondó adatok is találhatóak, a rendelkezésre álló bizonyítékok alapján kimondható, hogy immuntámogató hatással bíró számos mikrotápanyag modulálhatja a immunológiai folyamatokat és csökkentheti a fertőzések kockázatát. A mikrotápanyagok közül a C-vitamin, D-vitamin és cink immunerősítő hatását támogatja a legerősebb bizonyíték. A mikrotápanyagok adagjaira és kombinációira irányuló, célszerű tervezésű és különböző populációkban végzett klinikai tanulmányokra van szükség, hogy javítsuk ismereteinket a mikronutriensek infekciók elleni kedvező hatásairól."

## 6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Megállapítottuk, hogy a D-hipovitaminózis prevalenciája Magyarországon különösen tavasszal magas a közösségben élő posztmenopauzális nők körében, valamint hogy az alacsony 25OHD szintek és a kevés kalcium-felvétel kapcsolatban van a combnyak alacsony ásványianyag-sűrűségével. A D-hipovitaminózis prevalenciája férfi kohorszunkban alacsonyabb volt, mint amit a posztmenopauzális nőkben találtunk. Férfi kohorszunkban a FRAX érték, és nem a BMD társult a D-vitamin vérszintekkel. Mivel a combnyak csökkent BMD értéke az oszteoporotikus törések fokozott kockázatának erőteljes jelzője, megállapításainknak valószínűleg népegészségügyi jelentősége van, és segítő forrásanyagként szolgálhatnak az egészségpolitikai döntéshozói számára. Adatainkból is feltételezhető, hogy a D-vitamin és kalcium-pótlás, különösen télen hasznos és költséghatékony hozzájárulás lehet az oszteoporózis és vele kapcsolatos csonttörések megelőzéséhez és a rendelkezésünkre álló irodalmi bizonyítékok alapján további egészségnyeréssel is járhat.

2. A veseműködés és csontanyagcsere kapcsolatának vizsgálata során kimutattuk, hogy a szérum szklerosztin-szintek az életkorral emelkednek egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban, valamint hogy normális FN és/vagy LS csontdenzitás/T-score esetén idősebb férfiakban magasabbak a szklerosztin szintek, mint a középkorúakban. A veseműködés növekvő életkorral bekövetkező hanyatlása fontos tényező lehet az idős férfiak emelkedett szérum szklerosztin-szintjeinek létrejöttében. Mienk az első szklerosztin-szinteket vizsgáló tanulmány, amelyben egyidejűleg cisztatin C meghatározások is történtek a veseműködés vizsgálatára. Igazoltuk, hogy a csontanyagcsere egyik fontos szereplőjének, az OPG-nek szérum-szintje növekszik, a sRANKL/OPG hányados pedig csökken az életkor növekedésével egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Végkövetkeztetünk, hogy a cisztatin C szignifikáns előjelzője az OPG szintek változásának függetlenül az életkor, a szabad tesztoszteron index és az ösztradiol hatásaitól is.

3. Megállapítottuk, hogy a *csontképzési markerek* szintjei emelkednek a terhesség folyamán. Az OC és PICIP szintek a szülés után 6 hónappal is emelkedett szinten maradnak szoptató anyákban. A *rezorpció markerek* szintje pedig terhesség középidejéig csökken, majd a szülésig emelkedik és a szülés után, a laktáció alatt kiindulási értékig csökken. Az anyai fokozott csont turnover arra utalhat, hogy magzat és szoptatott csecsemő csontfejlődéséhez szükséges kalcium - legalábbis jórésben – az anyai csontrendszerből származik. Az anyai csont ásványianyag-vesztése azonban szoptató anyákban is az elválasztás után természetesen pótlódik.

4. Az irodalomban közölt adatok azt mutatják, hogy a két automatizált PINP assay rendszer (Roche Diagnostics és IDS iSYS) által mért értékek nagyon közel állnak egymáshoz,



de szignifikáns arányos eltérés mutatható ki az Orion RIA és a két automatizált rendszer által mért eredmények között. Az IFCC/IOF Joint Committee on Bone Metabolism - amelynek tagja vagyok - véleménye szerint az egységes eredmények érdekében a PINP módszerek harmonizálása látszik reális célnak. A PINP assay-k univerzális harmonizálása úgy kivitelezhető, ha nemzetközi multicentrikus tanulmányokban bármelyik kereskedelmi forgalomban lévő assay-fajtát használják, a méréseket az adott reagenscsomagot gyártó céggel együttműködésben végezzék és a módszerrel kapott tapasztalatokat külön elemezzék. Továbbá gyenge egyezést mutat a kereskedelmi forgalomban lévő két assay által adott mérési eredmény között a  $\beta$ -CTx vérből történő mérése során. Mivel a mérendő  $\beta$ -CTx molekula (EKAHD- $\beta$ -GGR) szerkezete kellően ismert, egy referencia standard készítmény szintézise lehetségesnek látszik. Egy referencia-mérési eljárás stabil, szintetikus  $\beta$ -CTx molekula, mint mérés standard használatával alkalmas lenne a vérből  $\beta$ -CTx mérésére gyártott és kereskedelemben forgalmazott reagens egységcsomagok standardizálására.

5. Véletlenszerű besorolásos kontrollós klinikai vizsgálatban megállapítottuk, hogy az ösztrogénhiányos kellemetlen tünetek csökkentésére alkalmazott transzdermális ösztrogén tapasz védhet a csontvesztés ellen posztmenopauzális SLE-beteg nőkben az ágyéki gerincsigolyákban és a combnyak állományában. A kiesési hányad magas volt, főleg a MHT-kezelés elején, és többnyire a hormonkezelés ismert lehetséges mellékhatásai okozták. Bár a ragaszkodás a terápiához jó volt, a MHT toleranciája nem volt kedvező, széleskörű alkalmazása a jövőben nem várható ebben a betegcsoportban.

6. Szignifikáns kapcsolatot találtunk a D-hipovitaminózis és a 2-es típusú cukorbetegség között, a D-hipovitaminózisos személyek esélye jelentősen nagyobb volt T2DM betegségre, mint a kontrolloké. A FRAX algoritmus által mért törési kockázat alulbecsüli a valódi kockázati szintet 2-es típusú cukorbeteg férfiakban és indokolják a cukorbetegségnek, mint önálló kockázati tényezőnek integrálását a FRAX algoritmusba. Mienk az irodalomban közölt egyik legnagyobb létszámú férfi pikkelysömörös artritiszes betegcsoport, amelyben közöltük a D-hipovitaminózis növekedett prevalenciáját, egyidejűleg a csont turnover fokozott voltát egy szisztematikusan kiválasztott egészséges, illetett kontrollcsoporthoz viszonyítva. A PsA-pQCT tanulmányunk az irodalomban elsőként hasonlította össze PsA-betegekben az aBMD-t és a volumetrikus denzitást, és igazolt szignifikáns korrelációt a két módszerrel kapott eredmények között. Szignifikánsan megnövekedett 10 éves törési kockázatot számítottunk PsA-betegeinkben FRAX-módszerrel, mind a csípőre, mind pedig az összes jelentős törésfajtákra. A vizsgált PsA betegcsoportban a betegség-aktivitás független előjelző tényezője volt a FRAX által jelzett jelentős oszteoporotikus töréseknek, továbbá a volumetriás és aBMD mérések javították az alacsony csontdenzitású egyének felismerést.

7. Saját kezdeményezésű tanulmányunkban egyszerű megközelítést javasoltunk a 25OHD értékek standardizációjára oly módon, hogy a DEQAS felmérés eltérését használjuk a NIST teljes célértéktől, ezáltal a nyers adatok azonnali korrekciójára és kiadására nyílik lehetőség – más laboratóriumok számára is javasolható ez az eljárás. Egy további alternatívát javasolunk az RPM - VDSP követelményekhez olyan környezetben, ahol a teljes módszer, vagy annak finanszírozása nem elérhető. Az általunk javasolt egyszerű megközelítési elv gyakorlati megoldást jelenthet a nem-egységessített 25OHD mérési adatokat körülvevő anomáliákra.

8. Először mutattunk rá, hogy a hagyományos úton képzett és a biológiai variációra alkalmazott adatok nem alkalmazhatók a 25OHD-re. Vizsgálatunk igazolta, hogy a 25OHD koncentrációknak nincs állandó állapota az idő folyamán (jelentős szezonális ingadozást mutat), és hogy bármely modell alkalmazása, amely egy homeosztatikus állandó érték körüli random variációra épül, megalapozatlan. Ebből következik, hogy másik APS meghatározása szükséges a 25OHD vizsgálatra és a részvételellemel IFCC Committee on Bone Metabolism által javasolt megközelítés a mérési bizonytalanság (measurement uncertainty, MU) használata.

9. Megállapítottuk, hogy a D-vitamin ellátottságot csökkentő már eddig is ismert tényezőkön túl, mint az öltözködés, az élelmiszerek dúsításának hiánya és a hiányos napsugár-expozíció, további hatásokkal kell számolnunk, mint például a különböző régiókban kialakult érendi szokások, amelyeknek fontos szerepe lehet a D-hipovitaminózis gyakoriságának alakításában különböző népességi csoportokban, mint az idősek, gyermekek, valamint a várandós nők.

10. A nemzetközi irodalomból származó, majd általunk áttekintett és publikált adatok alátámasztják a magasabb 25OHD koncentrációk szerepét az akut légúti fertőzés (ARTI)-esetek és következményes halál kockázatának csökkentésében, köztük az influenza, SARS-CoV2 és pneumonia vonatkozásában. A D3-vitamin évszak szerinti hullámzó értékeit figyelembe véve a pótlást hónapokkal a telet megelőzően kell kezdeni, hogy az ARTI-k megelőzéséhez elvárt 25OHD koncentráció-zóna kialakulhasson. Bár a védelem mértéke általában növekszik a 25OHD koncentráció emelkedésével, optimálisnak a 40-60 ng/mL (100-150 nmol/L) sávot tekintik.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Tudományos pályámon Balogh Ádám tanár úr indított el, nagyon köszönöm neki. Külön hálás vagyok azért, mert segített, hogy megtaláljam saját utamat.

Köszönöm Muszbek László akadémikusnak, aki munkahelyet biztosított az ország egyik legelőkelőbb orvosdiagnosztikai és kutató laboratóriumában.

Köszönöm Kappelmayer János professzornak a folyamatos támogatást, a jó munkahelyi légkört, de leginkább azt a biztatást, hogy a legjobbat hozzam ki magamból. Kovács L Gábor professzor segítette kapcsolataim kiépítését a laboratóriumi medicina nemzetközi társaságaival és ennek köszönhetem a jelenlegi nemzetközi szakmapolitikai megbízásaimat.

Köszönöm Khosrow Adeli, Tahir Pillay, Mario Plebani, Ana-Maria Simundic, Guiseppe Lippi és Tomris Ozben professzoroknak a segítőkészségét irányomban, amelyet folyamatosan biztosítanak számomra, mint magyar delegáltak különböző nemzetközi fórumokon. Köszönettel tartozom a külföldi kollaborációs kollégáknak, William B Grant, Pawel Pludowski, Etienne Cavalier, Samuel Vasikaran, Annemieke Heijboer, Konstantinos Makris, John Kanis, Cyrus Cooper, Christa Cobbaert és Michael Neumaier professzoroknak a gyümölcsöző együttműködési programokért.

Óriási szerencsém, hogy munkámat kiváló klinikus kollégákkal végezhetem. A betegekhez való odafordulásuk, alázatuk, a velük való mindig stimuláló eszmecserék, az évek során kivívott tisztelet és nem egy esetben barátság folyamatos motivációt jelent számomra.

Teljesség igénye nélkül, köszönöm ezt Kiss Emese, Szekanez Zoltán, Poór Gyula, Lakatos Péter, Horváth Csaba és Balla József professzoroknak. Köszönöm azoknak a hallgatóknak, akik engem választottak diplomamunka vagy TDK témavezetőjüknek. Hálás vagyok PhD hallgatóimnak, Dr. Jakab Évának, Dr. Pethő Zsófiának, Dr. Pap Zoltánnak, Rácz Szilviának.

Köszönöm a disszertációhoz laboratóriumi munkával vagy adminisztratív segítséggel hozzájárulóknak, Kalina Editnek, Földesi Rozáliának, Horváthné Ágnesnek, Kálmánczhey Viktóriának, Kópis Ildikónak és Kériné Katalinnak.

Végül azoknak, akiknek ezt soha nem tudom eléggé meghálálni: *a szüleimnek, a fiamnak és a feleségemnek.*

8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. More C, **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;106(2):209-213. (Q1, IF: 1,002)
2. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. The effect of one year transdermal estrogen replacement therapy on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteopenic postmenopausal systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporosis Int.* 2004;15:396–404. (D1, IF: 2,954)
3. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporosis Int.* 2004;15(6):447-451.(D1, IF: 2,954)
4. **Bhattoa HP**, Nagy E, More C, Kappelmayer J, Balogh A, Kalina E, Antal-Szalmas P. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in healthy Hungarian men over 50 years of age. *The HunMen Study. Osteoporosis Int.* 2013;24(1):179-186. (D1, IF: 4,165)
5. **Bhattoa HP**, Wamwaki J, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P. Serum sclerostin levels in healthy men over 50 years of age. *J Bone Miner Metab.* 2013;31(5):579-584. (Q1, IF: 2,114)
6. **Bhattoa HP**, Onyeka U, Kalina E, Balogh A, Paragh G, Antal-Szalmas P, Kaplar M. Bone metabolism and the 10-year probability of hip fracture and a major osteoporotic fracture using the country-specific FRAX algorithm in men over 50 years of age with type 2 diabetes mellitus: a case-control study. *Clin Rheumatol.* 2013;32(8):1161-1167. (Q1, IF: 1,774)
7. Petho Z, Kulcsar-Jakab E, Kalina E, Balogh A, Pusztai A, Gulyas K, Horvath A, Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Vitamin D status in men with psoriatic arthritis: a case-control study. *Osteoporosis Int.* 2015;26:1965–1970. (Q1, IF: 3,445)
8. Kulcsar-Jakab E, Petho Z, Pap Z, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P, **Bhattoa HP**. Cystatin C as a potential predictor of osteoprotegerin levels in healthy men. A cross-sectional, observational study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015;16:227. (Q1, IF: 1,684)
9. Jakab E, Kalina E, Petho Z, Pap Z, Balogh A, Grant WB, **Bhattoa HP**. Standardizing 25-hydroxyvitamin D data from the HunMen cohort. *Osteoporosis Int.* 2017;28:1653-1657. (Q1, IF: 3,856)
10. **Bhattoa HP**. Laboratory aspects and clinical utility of bone turnover markers eJIFCC. 2018;29(2):117-128.
11. Grant WB, Fakhoury HMA, Karras SN, Al Anouti F, **Bhattoa HP**. Variations in 25-Hydroxyvitamin D in Countries from the Middle East and Europe: The Roles of UVB Exposure and Diet. *Nutrients.* 2019;11:2065. (D1, IF: 4,546)
12. Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, **Bhattoa HP**. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients.* 2020;12:988. (D1, IF: 5,717)
13. Vasikaran SD, **Bhattoa HP**, Eastell R, Heijboer AC, Jørgensen NR, Makris K, Ulmer C, Kanis JA, Cooper C, Silverman S, Cavalier E. Harmonization of commercial assays for PINP; the way forward. *Osteoporosis Int.* 2020;31:409-412. (Q1, IF: 4,507)
14. **Bhattoa HP**, Cavalier E, Eastell R, Heijboer AC, Jørgensen NR, Makris K, Ulmer CZ, Kanis JA, Cooper C, Silverman SL, Vasikaran SD; IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism. Analytical considerations and plans to standardize or harmonize assays for the reference bone turnover markers PINP and  $\text{CtX}$  in blood. *Clin Chim Acta.* 2021;515:16-20. (Q1, IF: 6,314)

15. Petho Z, Kalina E, Pap Z, Hodosi K, Falcsik R, Balogh R, Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Characterization of bone metabolism in Hungarian psoriatic arthritis patients: a case-control study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2021;22:70. (Q2, IF: 2,562)
16. Makris K, **Bhattoa HP**, Cavalier E, Phinney K, Sempas CT, Ulmer CZ, Vasikaran SD, Vesper H, Heijboer AC. Recommendations on the measurement and the clinical use of vitamin D metabolites and vitamin D binding protein - A position paper from the IFCC Committee on bone metabolism. *Clin Chim Acta*. 2021;517:171-197. (Q1, IF: 6,314)
17. Cavalier E, Fraser CG, **Bhattoa HP**, Heijboer AC, Makris K, Ulmer CZ, Vesper HW, Vasikaran S, Lukas P, Delanaye P, Carobene A, On Behalf Of The Ifcc-Iof Committee For Bone Metabolism. Analytical Performance Specifications for 25-Hydroxyvitamin D Examinations. *Nutrients* 2021;13: 431. (D1, IF: 6,706)

9. AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM TÁRGYALT NEMZETKÖZI ÉS HAZAI KÖZLEMÉNYEK

**Teljes terjedelmű nemzetközi közlemények**

1. **Bhattoa HP**, Ganacharya S, Batar I. A decade of experience with TCu 200. *Adv contracept.* 1999;15:351-361. (IF: 0,206)
2. More C, Bettembuk P, **Bhattoa HP**, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporosis Int.* 2001;12:732-737. (IF: 3,529)
3. **Bhattoa HP**, Kiss E, Bettembuk P, Szegedi G, Balogh A. Bone Mineral Density, Biochemical Markers of Bone Turnover and Hormonal Status in Men with Systemic Lupus Erythematosus. *Rheumatol Int.* 2001;21:97-102. (IF: 0,893)
4. Kiss E, **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G. Pregnancy in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;101:129-134. (IF: 0,854)
5. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. Bone mineral density in women with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2002;21:135-141. (IF: 0,976)
6. Ganacharya S, **Bhattoa HP**, Batar I. Ectopic pregnancy among non-medicated and copper-containing intrauterine device users: a 10-year follow-up. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111:78-82. (IF: 1,002)
7. Ganacharya S, **Bhattoa HP**, Batár I. Pre-malignant and malignant cervical pathologies among inert and copper-bearing intrauterine contraceptive device users: A 10-year follow-up study. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2006;11:89-97. (IF: 0,467)
8. Kiss E, Soltész P, Der H, Kocsis Z, Tarr T, **Bhattoa HP**, Shoenfeld Y, Szegedi G. Reduced flow-mediated vasodilation as a marker for cardiovascular complications in lupus patients. *J Autoimmun.* 2006;27:211-217. (IF: 2,154)
9. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Shoenfeld Y, Szegedi G, Kiss E. Analysis of risk factors for the development of thrombotic complications in antiphospholipid antibody positive lupus patients. *Lupus* 2007;16:39-45 (IF: 2,248)
10. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Szegedi G, Shoenfeld Y, Kiss E. Primary antiphospholipid syndrome as the forerunner of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16: 324-328. (IF: 2,248)
11. Nagy B, Csongradi E, **Bhattoa HP**, Balogh I, Blasko G, Paragh G, Kappelmayer J, Kaplar M. Investigation of Thr715Pro P-selectin gene polymorphism and soluble P-selectin levels in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Haemost.* 2007;98:186-191. (IF: 3,501)
12. Tarr T, Gyorfy B, Szekanez E, **Bhattoa HP**, Zeher M, Szegedi G, Kiss E. Occurrence of Malignancies in Hungarian Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Results from a Single Center. *Ann NY Acad Sci.* 2007; 1108:76-82. (IF: 1,731)
13. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Soltész P, Shoenfeld Y, Szegedi G, Kiss E. Clinical thrombotic manifestations in SLE patients with and without antiphospholipid antibodies: a 5-year follow-up. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007;32:131-137. (IF: 2,077)
14. Goldstein SR, **Bhattoa HP**, Neven P, Cox DA, Dowsett SA, Alam J, Sipos A, Muram D. Gynecological effects of arzoxifene in postmenopausal women with osteoporosis or low bone mass. *Menopause.* 2012;19:41-47. (IF: 3,163)
15. Góth L, Nagy T, Kósa Z, Fejes Z, **Bhattoa HP**, Paragh G, Káplár M. Effects of rs769217 and rs1001179 polymorphisms of catalase gene on blood catalase, carbohydrate and lipid biomarkers in diabetes mellitus. *Free Radic Res.* 2012;46:1249-1257. (IF: 3,279)
16. Szánthó E, **Bhattoa HP**, Csobán M, Antal-Szalmás P, Ujfalusi A, Kappelmayer J, Hevessy Z. Serum thymidine kinase activity: analytical performance, age-related reference ranges and validation in chronic lymphocytic leukemia. *PLoS One.* 2014;9:e91647. (IF: 3,234)

17. Pludowski P, Grant W, **Bhattoa HP**, Bayer M, Povoroznyuk V, Rudenka E, Ramanau H, Varbiro S, Rudenka A, Karczarewicz E, Lorenc RS, Czech-Kowalska J, Konstantynowicz J. Vitamin D status in Central Europe. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:589587. (IF: 1,948)
18. Nagy B, **Bhattoa HP**, Steiber Z, Csobán M, Szilasi M, Méhes G, Müller M, Lázár J, Kappelmayer J, Antal-Szalmás P. Serum human epididymis protein 4 (HE4) as a tumor marker in men with lung cancer. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52:1639-1648. (IF: 2,707)
19. Kalász J, Pásztor Tóth E, Bódi B, Fagyas M, Tóth A, **Pal BH**, G. Vári S, Balog M, Blažetić S, Heffer M, Papp Z, Borbély A. Single acute stress-induced progesterone and ovariectomy alter cardiomyocyte contractile function in female rats. *Croat Med J.* 2014;55:239-249. (IF: 1,305)
20. Molnar Z, Mokanszki A, Kassai Bazsane Z, **Bhattoa HP**, Benyo M, Olah E, Jakab A. Sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity, aneuploidy and persistent histones in testicular cancer. *Hum Reprod.* 2014;29:1866-1874. (IF: 4,569)
21. Nagy T, Paszti E, Kaplar M, **Bhattoa HP**, Goth L. Further acatalasemia mutations in Hungarian patients with diabetes and microcytic anemia. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen.* 2015;772:10–14. (IF: 2,581)
22. Kincse G, **Bhattoa PH**, Herédi E, Varga J, Szegedi A, Kéri J, Gaál J. Vitamin D3 levels and bone mineral density in patients with psoriasis and/or psoriatic arthritis. *J Dermatol.* 2015;42:679-684. (IF: 1,577)
23. Nagy B Jr, Nagy B, Fila L, Clarke LA, Gönczy F, Bede O, Nagy D, Újhelyi R, Szabó Á, Anghelyi A, Major M, Bene Z, Fejes Z, Antal-Szalmás P, **Bhattoa HP**, Balla G, Kappelmayer J, Amaral MD, Macek M Jr, Balogh I. Human epididymis protein 4 (HE4): a novel serum inflammatory biomarker in cystic fibrosis. *Chest.* 2016;150:661-672. (IF: 6,147)
24. Bombicz M, Priksz D, Varga B, Gesztelyi R, Kertesz A, Lengyel P, Csupor D, Hohmann J, **Bhattoa HP**, Haines DD, Juhasz B.. Anti-Atherogenic Properties Of Allium Ursinum Lipophilizate: Impact On Lipoprotein Homeostasis And Cardiac Biomarkers Under Hypercholesterolemic Circumstances. *Int J Mol Sci.* 2016;17:E1284. (IF: 3,226)
25. Becs G, Hudák R, Fejes Z, Debreceni IB, **Bhattoa HP**, Balla J, Kappelmayer J. Haemodiafiltration elicits less platelet activation compared to haemodialysis. *BMC Nephrol.* 2016.;17:147. (IF: 2,289)
26. Csenteri OK, Sándor J, Kalina E, **Bhattoa HP**, Gődény S. The role of hyperinsulinemia as a cardiometabolic risk factor independent of obesity in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33:34-38. (IF: 1,453)
27. Juhasz B, Gulyás K, Horváth Á, Pethő Z, **Bhattoa HP**, Vánca A, Szekanez É, Horváth C, Kocsis J, Horváth Z, Hodosi K, Szántó S, Szűcs G, Szekanez Z. Comparison of peripheral quantitative computed tomography forearm bone density versus DXA in rheumatoid arthritis patients and controls. *Osteoporos Int.* 2017;28:1271-1277. (IF: 3,856)
28. **Bhattoa HP**, Konstantynowicz J, Laszcz N, Wojcik M, Pludowski P. Vitamin D: Musculoskeletal health. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18:363-371. (IF: 4,963)
29. Muscogiuri G, Altieri B, Annweiler C, Balercia G, **Pal HB**, Boucher BJ, Cannell JJ, Foresta C, Grübler MR, Kotsa K, Mascitelli L, März W, Orio F, Pilz S, Tirabassi G, Colao A. Vitamin D and chronic diseases: the current state of the art. *Arch Toxicol.* 2017;91:97-107. (IF: 5,728)
30. Grant WB, **Bhattoa HP**, Boucher BJ. Seasonal variations of U.S. mortality rates: Roles of solar ultraviolet-B doses, vitamin D, gene expression, and infections. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;173:5-12. (IF: 4,095)
31. Muscogiuri G, Annweiler C, Duval G, Karras S, Tirabassi G, Salvio G, Balercia G, Kimball S, Kotsa K, Mascitelli L, **Bhattoa HP**, Colao A. Vitamin D and Cardiovascular Disease: from atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *Int J Cardiol.* 2017;230:577-584. (IF: 4,034)

32. Szentpetery A, Horvath A, Gulyas K, Petho Z, Bhattoa HP, Szanto S, Szucs G, FitzGerald O, Schett G, Szekanez Z. Effects of targeted therapies on the bone in arthritides. *Autoimmun Rev.* 2017;16:313-320. (IF: 4,745)
33. Oláh C, Kardos Z, Sepsi M, Sas A, Kostyál L, **Bhattoa HP**, Hodosi K, Kerekes G, Tamási L, Valikovic A, Bereczki D, Szekanez Z. Assessment of intracranial vessels in association with carotid atherosclerosis and brain vascular lesions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2017 26;19:213. (IF: 4,269)
34. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, Povoroznyuk V, Balatska N, Barbosa AP, Karonova T, Rudenka E, Misiorowski W, Zakharova I, Rudenka A, Łukaszkiewicz J, Marciniowska-Suchowierska E, Łaszcz N, Abramowicz P, **Bhattoa HP**, Wimalawansa SJ. Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;175:125-135. (IF: 3,785)
35. Katko M, Gazso AA, Hirsu I, **Bhattoa HP**, Molnar Z, Kovacs B, Andradi D, Aranyosi J, Makai R, Veress L, Torok O, Bodor M, Samson L, Nagy EV. Thyroglobulin level at week 16 of pregnancy is superior to urinary iodine concentration in revealing pre-conceptual and first trimester iodine supply. *Matern Child Nutr.* 2018;14:e12470. (IF: 3,305)
36. Kardos Z, Oláh C, Sepsi M, Sas A, Kostyál L, Bóta T, **Bhattoa HP**, Hodosi K, Kerekes G, Tamási L, Bereczki D, Szekanez Z. Increased frequency of temporal acoustic window failure in rheumatoid arthritis: a manifestation of altered bone metabolism? *Clin Rheumatol.* 2018;37:1183-1188. (IF: 2,293)
37. Andrásy L, Gomez I, Horváth Á, Gulyás K, Pethő Z, Juhász B, **Bhattoa HP**, Szekanez Z. Laser-induced plasma spectroscopy (LIPS): use of a geological tool in assessing bone mineral content. *Lasers Med Sci.* 2018;33:1225-1236. (IF: 2,076)
38. Muscogiuri G, **Bhattoa HP**. Vitamin D and endocrine disorders: routine laboratory diagnostic implications. *eJIFCC.* 2018;29:111-116.
39. Grant WB, Boucher BJ, **Bhattoa HP**, Lahore H. Why vitamin D clinical trials should be based on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;177:266-269. (IF: 3,785)
40. Márton J, Péter M, Balogh G, Bódi B, Vida A, Szántó M, Bojcsuk D, Jankó L, **Bhattoa HP**, Gombos I, Uray K, Horváth I, Török Z, Balint BL, Papp Z, Vigh L, Bai P. Poly(ADP-ribose) polymerase-2 is a lipid-modulated modulator of muscular lipid homeostasis. *Biochim Biophys Acta. Mol Cell Biol Lipids.* 2018;1863:1399-1412. (IF: 4,402)
41. Muscogiuri G, Barrea L, Altieri B, Di Somma C, **Bhattoa H**, Laudisio D, Duval GT, Pugliese G, Annweiler C, Orio F, Fakhouri H, Savastano S, Colao A. Calcium and vitamin D supplementation. Myths and realities with regard to cardiovascular risk. *Curr Vasc Pharmacol.* 2019;17:610-617. (IF: 2,672)
42. Horváth A, Vegh E, Pusztai A, Petho Z, Hamar A, Czokolyova M, **Bhattoa H**, Nagy G, Juhász B, Hodosi K, Domjan A, Szekanez Z, Szucs G, Szamosi S. Complex assessment of bone mineral density, fracture risk, vitamin D status and bone metabolism in Hungarian systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther.* 2019;21:274. (IF: 4,103)
43. Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, Pethő Z, Vánca A, Bodnár N, Csomor P, Hamar A, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Juhasz B, Nagy Z, Hodosi K, Karosi T, FitzGerald O, Szucs G, Szekanez Z, Szamosi S, Szanto S. Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol.* 2020;39:167–175. (IF: 2,980)
44. Altieri B, Cavalier E, **Bhattoa HP**, Pérez-López FR, López-Baena MT, Pérez-Roncero GR, Chedraui P, Annweiler C, Della Casa S, Zelzer S, Herrmann M, Faggiano A, Colao A, Holick MF. Vitamin D testing: advantages and limits of the current assays. *Eur J Clin Nutr.* 2020;74:231-247 (IF: 4.016)
45. Cavalier E, Vasikaran S, **Bhattoa HP**, Heijboer AC, Makris K, Ulmer CZ. The path to the standardization of PTH: Is this a realistic possibility? A position paper of the IFCC C-BM. *Clin Chim Acta.* 2021;515:44-51. (IF: 6,314)



46. Hamar A, Szekaneecz Z, Pusztai A, Czókolyová M, Végh E, Pethő Z, Bodnár N, Gulyás K, Horváth Á, Soós B, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Nagy G, Tajti G, Panyi G, Szekaneecz É, Domján A, Hodosi K, Szántó S, Szűcs G, Szamosi S. Effects of one-year tofacitinib therapy on bone metabolism in rheumatoid arthritis. *Osteoporos Int.* 2021;32:1621-1629. (IF: 5.071)
47. Katko M, Galgoczi E, Erdei A, Gazdag A, Berta E, Bodor M, Seres I, Hircsu I, Badics A, Ujhelyi B, Sira L, **Bhattoa HP**, Nagy EV. The 4G/5G Polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 is a Predictor of Moderate-to-Severe Thyroid Eye Disease. *J Inflamm Res.* 2021;14:1883-1890. (IF: 4.631)
48. Samson L, Hircsu I, Katko M, Bodor M, Gazdag A, Gazso AA, Kovacs B, Posta J, Balogh E, Mocsary P, **Bhattoa HP**, Nagy EV. Lower educational status interferes with maternal iodine intake during both pregnancy and lactation. *Endocr Connect.* 2021;10:742-749. (IF: 3.221)
49. Juhász B, Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, Pethő Z, Bodnár N, Hamar A, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Szekaneecz É, Hodosi K, Domján A, Szamosi S, Horváth C, Szántó S, Szűcs G, Raterman HG, Lems WF, FitzGerald O, Szekaneecz Z. Peripheral quantitative computed tomography in the assessment of bone mineral density in anti-TNF-treated rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients. *BMC Musculoskelet Disord.* 2021;22:817. (IF: 2,562)
50. Pusztai A, Hamar A, Czókolyová M, Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pethő Z, Szamosi S, Balogh E, Bodnár N, Bodoki L, Szentpétery Á, **Bhattoa HP**, Kerekes G, Juhász B, Szekaneecz É, Hodosi K, Domján A, Szántó S, Raterman HG, Lems WF, Szekaneecz Z, Szűcs G. Associations of vascular and bone status in arthritis patients. *Sci Rep.* 2021;11:19504. (IF: 4,996)
51. Vasikaran SD, Miura M, Pikner R, **Bhattoa HP**, Cavalier E; IOF-IFCC Joint Committee on Bone Metabolism (C-BM). Practical Considerations for the Clinical Application of Bone Turnover Markers in Osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2021 Nov 30. doi: 10.1007/s00223-021-00930-4. (IF: 4,000)
52. Kappelmayer J, **Bhattoa HP**, Kovács LG. An Overview on the Scientometric Advancement of the eJIFCC. *eJIFCC.* 2021;32:403-408.
53. Bereczki D, Nagy B, Kerényi A, Nagy G, Szarka K, Kristóf K, Szalay B, Vásárhelyi B, **Bhattoa HP**, Kappelmayer J. EDTA-Induced Pseudothrombocytopenia Up to 9 Months After Initial COVID-19 Infection Associated with Persistent Anti-SARS-CoV-2 IgM/IgG Seropositivity. *Lab Med.* 2022;53:206-209. (IF: 1,865)
54. Cobbaert C, Capoluongo ED, Vanstapel FJLA, Bossuyt PMM, **Bhattoa HP**, Nissen PH, Orth M, Streichert T, Young IS, Macintyre E, Fraser AG, Neumaier M. Implementation of the new EU IVD regulation: urgent initiatives are needed to avert impending crisis. *Clin Chem Lab Med.* 2022;60:33-43. (IF: 8,490)
55. Pap Z, Kalabiska I, Balogh Á, **Bhattoa HP**. Prevalence of sarcopenia in community dwelling outpatient postmenopausal Hungarian women. *BMC Musculoskelet Disord.* 2022;23:207. (IF: 2,562)
56. Soós B, Szentpétery Á, Raterman HG, Lems WF, **Bhattoa HP**, Szekaneecz Z. Effects of targeted therapies on bone in rheumatic and musculoskeletal diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2022;18:249-257. (IF: 32,286)

#### Nemzetközi szerkesztői levelek:

1. Karras SN, Annweiler C, Boucher B, **Bhattoa HP**, Muscogiuri G, Stefan P. Re: Bias, Bones and Vitamin D. <http://www.bmj.com/content/351/bmj.h3170/r-3>. Response to: Grey A, Bolland MJ. Web of industry, advocacy, and academia in the management of osteoporosis. *BMJ* 2015; 351 doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.h3170>
2. Grant WB, Baggerly CA, **Bhattoa HP**, Boucher BJ, Moukayed M, Pludowski P. Nursing home residents could reduce risk of COVID-19 by supplementing with vitamin D3.

<https://www.bmj.com/content/369/bmj.m2530/rr> (Published 30 June 2020). Rapid Response to: Griffin S. Covid-19: Continued outbreaks in care homes risk extending pandemic, say experts. *BMJ* 2020;369:m2530. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2530> (Published 24 June 2020).

### Nemzetközi kommentár:

Boucher B, Grant WB, **Bhattoa HP**. Exploring the role of Vitamin D. Comments on Fleury et al. Sun exposure and its effects on human health: mechanisms through which sun exposure could reduce the risk of developing obesity and cardiometabolic dysfunction. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2016, 13, 999. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13:1256.

### Teljes terjedelmű hazai közlemények:

1. Bettembuk P, **Bhattoa HP**, More C, Balogh Á. A Debreceni Regionális Osteoporosis Centrum denzitometriai vizsgálatainak tapasztalatai. *Ca és Csont*. 2001;4(2):61-65.
2. **Bhattoa HP**, Csathy L, Demenyi T, Kappelmayer J. „Webalapú” laboratóriumi szolgáltatás. *Orv Hetil.* 2008;149:203-208.
3. Mezo T, Tabak A, **Bhattoa HP**, Lakatos P. Az osteoporosis és az osteoporoticus törések kockázati tényezői magyar nők csoportjában: a Nemzeti Osteoporosis Kockázati Kérdőív (NOKK) vizsgálat eredményei. *Ca és Csont*. 2009;12:118-124.
4. Balogh A, **Bhattoa HP**. Új ismeretek a corticalis csontállomány biológiájáról és részvételéről a csonttörések létrejöttében. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM-KID)*. 2011;1:5-8.
5. **Bhattoa HP**. Női és férfi oszteoporózis: különböznek? *Medical Tribune*. 2011;IX(18):10.
6. **Bhattoa HP**. D-vitamin-meghatározás: preanalitikai és analitikai szempontok. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM-KID)*. 2011;1:49-51.
7. Balogh A, **Bhattoa HP**. A posztmenopauzális osteoporosis korszerű kezelése. *Magyar Családorvosok Lapja*. 2012;2:2-5.
8. Molnar Z, Wamwaki J, Petho Z, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P, **Bhattoa HP**. Szklerosztinszint-meghatározás egészséges férfiakban. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM KID)*. 2014;4:63-68.
9. Kincse G, **Bhattoa HP**, Varga J, Szegedi A, Kéri J, Gaál J. D3-vitamin-státusz és csontdenzitás psoriasisban és arthritis psoriaticában szenvedő betegekben. *Immunológiai Szemle*. 2014;1-2:10-16.
10. Andrassy L, Maros G, Kovács IJ, Horváth A, Gulyás K, Bertalan E, Besnyi A, Fűri J, Fancsik T, Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Lézer-alapú geológiai technikák felhasználhatósága a csontkutatásban: kalcium oxid eloszlás vizsgálatok állati csont vékonycsiszolatokon. *Orv Hetil.* 2014;155:1783-1793. (IF: 0,707)
11. Petho Z, Kulcsar-Jakab E, Onyeka U, Molnar Z, Kalina E, Balogh A, Paragh G, Antal-Szalmas P, Kaplar M, **Bhattoa HP**. Az ország specifikus FRAX-algoritmus által meghatározott 10 éves csípő- és major osteoporoticus törések valószínűségének vizsgálata 2-es típusú diabeteses férfiak csoportjában. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM KID)*. 2014;4:155-161.
12. Kovács I, Udvardi B, Falus G, Földvári M, Fancsik T, Kónya P, Bodor E, Mihály J, Németh C, Czirják G, Ósi A, Vargáné Barna Z, **Bhattoa HP**, Szekanez Z, Turza S. Az ATR FTIR spektrometria gyakorlati alkalmazása néhány - elsősorban földtani - esettanulmány bemutatásával. *Földtani Közlöny*. 2015;145:173-192.
13. Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Csontanyagcsere Diabetes Mellitusban. *Metabolizmus*. 2016;14:110-114.
14. Balogh A, **Bhattoa HP**. A D-vitamin és kalcium hatásai időskorban. *Magyar Nőorvosok Lapja*. 2017;80:63-69.

15. Kappelmayer J, **Bhattoa HP**. Neuroendokrin tüdőtumorkok laboratóriumi kivizsgálása. *Magy Onkol.* 2018;62:108–112.
16. Nagy B Jr, **Bhattoa HP**, Kappelmayer J. A prosztatarák laboratóriumi diagnosztikája: honnan hová tartunk? *Magy Onkol.* 2019;63:16–25.
17. Kovács D, Fedor R, Andrási M, Barna S, Tóth L, **Bhattoa H**, Bodor M, Gyórfy F. Parathyroid carcinoma: rare endocrine disease. *Magyar Seb.* 2020;73:43-46.
18. Hircsu I, Gazdag A, Bodor M, Berta E, Andrási M, Kanyári Z, Gyórfy F, Barna S, **Bhattoa HP**, Nagy B, Nagy VE, Erdei A. A multiplex endokrin neoplasia-2A szindrómáról egy család kapcsán. *Orv Hetil.* 2020;161:75-79. (IF:0,540)
19. Szekanez Z, Pethő Z, **Bhattoa H**. A diabetes mellitus és a csontanyagcsere összefüggései. *Metabolizmus.* 2020;17:206-212.
20. Szekanez Z, Pethő Z, **Bhattoa H**. A diabetes mellitus és a csontanyagcsere összefüggései. *Mozgásszervi Továbbk. Szle.* 2020;3:102-108.
21. Herman T, Csehely S, Orosz M, **Bhattoa HP**, Deli T, Török P, Jakab A. Endokrin kórképek előfordulása és társulása in vitro fertilizációs programban részt vevő nők körében. *Orv Hetil.* 2022;163:712-719. (IF:0,707)

#### Szakmai irányelv:

1. Fejlesztő munkacsoport. Az Emberi Erőforrások Minisztériuma egészségügyi szakmai irányelve a differenciált pajzsmirigyák diagnosztikája és kezelése. *Egészségügyi Közl.* 2021;24:2643-2716.

#### 10. KÖNYVFEJEZET, SZAKTANULMÁNY

##### Felsőoktatási művek:

1. **Bhattoa HP**. Point of care testing (POCT). In *Practicals in laboratory medicine*. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 151-156.
2. **Bhattoa HP**. Point of care testing (POCT). Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In *Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok*. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 151-156.
3. **Bhattoa HP**. Clinical chemistry assays in case of liver diseases. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. In *Practicals in laboratory medicine*. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 157-163.
4. **Bhattoa HP**. Klinikai kémiai vizsgálatok a májbetegségek diagnosztikájában. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In *Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok*. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 157-163.
5. **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. In *Practicals in laboratory medicine*. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 183-193.
6. **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In *Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok*. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 183-193.
7. **Bhattoa HP**. Clinical laboratory investigations in the diagnostics of hepatic disorders. In *Practicals in laboratory medicine*. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2010. pp. 171-177.
8. **Bhattoa HP**. A májbetegségek diagnosztikája. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In *Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok*. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2010. pp. 171-177.

9. Lenkey Á, **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. In Practicals in laboratory medicine. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2010. pp. 199-210.
10. Lenkey Á, **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2010. pp. 199-210.
11. V. Oláh A, **Bhattoa HP**. Autovalidation in laboratory medicine, clinical chemistry. 2015. <http://elettudomanyi-klinikaifelsooktatas.unideb.hu/http://tamop411c13.unideb.hu/datastore/list&lang=en>
12. **Bhattoa HP**. Endokrin tesztek és tumormarkerek autovalidálása. 2015. <http://elettudomanyi-klinikaifelsooktatas.unideb.hu/http://tamop411c13.unideb.hu/datastore/list&lang=hu>
13. **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. In Practicals in laboratory medicine. Ed. Kappelmayer J. University of Debrecen, Debrecen, 2016. pp. 229-240.
14. Lenkey Á, **Bhattoa HP**. Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2016. pp. 229-240.
15. Bhattoa HP, Nagy G. Gyulladás jelei, mozgásszervek bajainak laboratóriumi diagnosztikája, csontanyagcsere (Ca és P, mellékpajzsmirigy). Ajzner É (szerk.). In Konzultatív laboratóriumi Medicina. ÁEEK, Budapest. 2018. pp. 493-548. ISBN 978 963 9661 44 8.

#### **Könyv:**

Balogh A, **Bhattoa HP**. Postmenopausalis osteoporosis: megelőzés és terápia. Medicina könyvkiadó Rt. Budapest 2004. 226.p. ISBN 963 242 924 9.

#### **Könyvfejezetek:**

1. **Bhattoa HP**. Laboratóriumi vizsgálatok. In Metabolikus csontbetegségek. Lakatos P, Takács I (szerk.) Medintel könyvkiadó, Budapest 2006. pp. 102-115. ISBN 978 963 843 329 9.
2. **Bhattoa HP**, Speer G, Lakatos P. Laboratóriumi referenciatartományok. In Metabolikus csontbetegségek. Lakatos P, Takács I (szerk.). Medintel könyvkiadó, Budapest 2006. pp. 471-473. ISBN 978 963 843 329 9.
3. Balogh A, **Bhattoa HP**. Az osteoporosis és hatása az időskorúak egészségügyi állapotára. In A klinikai gerontológia alapjai. Imre S (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2007. pp. 113-134. ISBN 963 226 065 1.
4. Balogh A, **Bhattoa HP**. Osteoporózis gyógyszeres terápiaja. In Reumatológiai gyógyszeres terápia Szekanecz Z (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2009. pp. 305-340. ISBN 978 963 226 096 9.
5. Balogh A, **Bhattoa HP**. Normális laboratóriumi értékek terhességben. In A várandósgondozás kézikönyve Papp Z (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2016. pp. 123-130. ISBN 978 963 226 566 7.
6. Grant WB, **Bhattoa HP**, Pludowski P. Determinants of Vitamin D Deficiency From Sun Exposure: A Global Perspective. In Vitamin D, 4<sup>th</sup> Edition: Volume 2: Health, Disease and Therapeutics. Eds. Feldman D, Pike JW, Bouillon R, Giovannucci E, Goltzman D, Hewison M. Academic Press, San Diego, CA, USA. 2018. pp. 79-90. ISBN 978 012 809 963 6.

11. CSOPORTOS (MULTICENTRIKUS) KÖZLEMÉNYBEN KOLLABORÁCIÓS KÖZREMŰKÖDŐ
1. Cavalier, E., Eastell, R., Rye Jorgensen, N., Makrilakis, K., Tournis, S., Vasikaran, S., Kanis, J., Cooper, C., Pottel, H., Morris, H., **IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism**: A multicenter study to evaluate harmonization of assays for N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP): a report from the IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism. Clin Chem Lab Med. 2019;57:1546-1555. (IF: 3,595)
  2. Merkely, B., Szabó, A., Kosztin, A., Berényi, E., Sebestyén, A., Lengyel, C., Merkely, G., Karády, J., Várkonyi, I., Papp, C., Miseta, A., Betlehem, J., Burián, K., Csóka, I., Vásárhelyi, B., Ludwig, E., Prinz, G., Sinkó, J., Hankó, B., Varga, P., Fülöp, G., Mag, K., Vokó, Z., **HUNgarian CoronaVirus-19 Epidemiological Research (H-UNCOVER) investigators**: Novel coronavirus epidemic in the Hungarian population, a cross-sectional nationwide survey to support the exit policy in Hungary. GeroScience. 2020;42:1063-1074. (IF: 7.713)
  3. Cavalier E, Lukas P, Bottani M, Aarsand AK, Ceriotti F, Coşkun A, Díaz-Garzón J, Fernández-Calle P, Guerra E, Locatelli M, Sandberg S, Carobene A; European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group on Biological Variation and **IOF-IFCC Committee on Bone Metabolism**. European Biological Variation Study (EuBIVAS): within- and between-subject biological variation estimates of  $\beta$ -isomerized C-terminal telopeptide of type I collagen ( $\beta$ -CTX), N-terminal propeptide of type I collagen (PINP), osteocalcin, intact fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated-unphosphorylated matrix-Gla protein-a cooperation between the EFLM Working Group on Biological Variation and the International Osteoporosis Foundation-International Federation of Clinical Chemistry Committee on Bone Metabolism. Osteoporos Int. 2020;31:1461-1470. (IF: 4,507)
  4. Cavalier E, Eastell R, Jørgensen NR, Makris K, Tournis S, Vasikaran S, Kanis JA, Cooper C, Pottel H, Morris HA; **IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism (C-BM)**. A Multicenter Study to Evaluate Harmonization of Assays for C-Terminal Telopeptides of Type I Collagen ( $\beta$ -CTX): A Report from the IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism (C-BM). Calcif Tissue Int. 2021;108:785-797. (IF: 4,000)

12. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

Bhattoa Harjit Pal tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása  
MTA V. Orvostudományi Osztály (2022.10.05)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások	
	Összesen	Részletezve	Független	Összesen
<b>I. Folyóiratcikk</b>	87	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	56	1258	1413
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	10	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	8	6	11
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként	---	1	10	13
összefoglaló közlemény	---	20	1263	1373
rövid közlemény	---	2	39	60
<b>II. Könyv</b>	1	---	---	---
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként</b>	1	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	1	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
<b>b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként</b>	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
<b>III. Könyvrészlet</b>	18	---	---	---
idegen nyelvű	---	1	4	4
magyar nyelvű	---	4	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	13	0	0
<b>IV. Konferenciaközlemény</b>	0	---	0	0
<b>Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)</b>	---	13	0	0
<b>Tudományos közlemények összesen (I-IV)</b>	---	93	2580	2874
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)</b>	106	---	2580	2874
<b>V. További tudományos művek</b>	12	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltóságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	8	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	4	4	4
Ottalmak (szabadalmak)	---	0	0	0
<b>VI. Hivatkozott absztraktok</b>	6	---	5	10
<b>Összes hivatkozás</b>	---	---	2589	2888
<b>Hirsch index</b>	26	---	---	---
<b>g index</b>	53	---	---	---
<b>Speciális tudománymetriai adatok</b>		<b>Száma</b>	<b>Összes hivatkozás</b>	
Első szerzős teljes folyóiratcikk száma	12	327		
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikk száma	15	920		
A tudományos fokozat elnyerése utáni (2002) teljes tudományos folyóiratcikk száma	81	2643		
Az utolsó 10 év (2012 - 2022) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	68	2157		
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	872	30,19%		
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	96		
Jelentés, guideline	1	0		
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő	4	56		