

Dr Szabó András opponensi értékelése

Dr. Bhattoa Harjit Pál, Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet

„A csontanyagcsere és a D-vitaminháztartás biokémiai markerei. Analitikai kihívások, klinikai alkalmazások”-című doktori értekezéséhez.

A D vitamin fontos szabályozó szerepet játszik olyan alapvető élettani folyamatokban, mint a sejtproliferáció, endokrin szabályozás, az immunrendszer működése, tumorgenezis stb. Az időskori osteoporosis népegészségügyi jelentősége is rendkívül nagy, ezért a szerző témaválasztása rendkívül időszerű, és lehetőséget ad a felmerülő kérdések sokoldalú megközelítésére. A disszertáció ezt a témát a klinikai vizsgálatok és a laboratóriumi módszerek vizsgálata irányából közelítette meg.

Az értekezés összességében 214 számozott szakmai oldalt tartalmaz, melyhez további 41 oldal irodalomjegyzék kapcsolódik 732 hivatkozással. A hatalmas terjedelem és az idézett közlemények nagy száma nem minősíti ugyan a munka tudományos tartalmát, de kétségtelenül jelzi mind a választott téma széleskörűségét, mind a jelölt munkásságát. Az értekezés alapjául 17 közlemény szolgál, melyek közül a jelölt 7-nek első szerzője és 10-nek utolsó szerzője. Az értekezésben nem tárgyalt nemzetközi közleményeinek száma 59 és a hazai közleményeinek a száma 22.

A munka a formai követelményeknek megfelel. A jelölt 13 fejezetre bontotta a bemutatott tartalmat. A rövidítések jegyzéke pontos, jól értelmezhető, jól kiegészíti a tartalmat. 146 rövidítés összhangban van a munka terjedelmességével. A bevezetés 50 oldalon segíti a tudományos értekezés megértését, és a választott téma felvezetését. A célkitűzéseket 10 pontban sorolta fel, amit követ a tervezett vizsgálati személyek és módszerek ismertetése 26 oldalon. Az eredmények 65 oldalon, a megbeszélés és következtetések további 55 oldalon kerültek bemutatásra. A munka decimális rendszerben konzekvensen követi a célkitűzésekben található 10 pontot. 51 táblázat és 19 ábra segíti az olvasót a munka megértésében.

A disszertáció áttekinthető, nyelvezete jól érthető, magyarsága és tudományos nyelvezete megfelelő. Helyesírásban néha tetten érhető az angol szakirodalom nyelvezetének hatása. Érthetőségi akadály, gépelési hiba vagy a hibrid írásmód elvétve fordul elő.

A 10 pontban felsorolt célkitűzéseket egységes koncepcióval, jól átgondolt gondolatmentere felfűzve vizsgálta. A nagyszámú, különböző betegcsoportokban felmerülő részkérdések vizsgálatának jelentősége heterogén. A kérdések megválaszolásához elengedhetetlenül szükségesek a megbízható laboratóriumi módszerek, melyek standardizálása és a klinikai rutin számára is megbízható alkalmazása indokolja a célkitűzésekben szereplő módszertani kérdések áttekintését. A kitűzött célok között azonban vannak olyan irodalmi összefoglalók, melyektől új saját eredmény nem volt várható.

A szerző által a vizsgálatok során alkalmazott módszerek a legkorszerűbbek, de a klinikai tapasztalatok ezekkel még szerények, ezért számítanak jelentősnek a munkában szereplő klinikai vizsgálati eredmények, melyek igen alaposan mutatják be a vizsgálati módszerek gyengeségeit is, tükrözve a jelölt laboratóriumi jártasságát. A kétségtelenül

nagyszámú 732 szakirodalmi hivatkozásból 443 a bevezetés és a módszerek ismertetéséhez kapcsolódik, mely jelzi a téma rendkívül gazdag szakirodalmát és a jelölt alapos irodalmi tájékozottságát.

Részletes vélemény

A szerző 10 célkitűzése közül **az elsőben** a csökkent D vitamin ellátottság prevalenciáját vizsgálta posztmenopauzális nőkben és hasonló korú férfiakban. Az eredmények az irodalmi adatokkal egyeznek. A férfiaknál a FRAX érték (törési kockázatértékelés) és nem a BMD társul a D-vitamin vérszintekkel, ellentétben a nőkkel. Ez a megállapítás újdonságnak számít, de a szerző nem ad magyarázatot arra, hogy milyen mechanizmussal romlik a FRAX érték D vitaminhiányban, ha BMD érték nem csökken. Az eredmények számszerű ismertetése nélkül a szerző azt írja, hogy a vizsgált csontmarkerek viszont inverz korrelációt mutattak a BMD-vel.

Szerző szerint melyik vizsgálati paraméternek van a legjobb prediktív értéke a törési kockázatra: a D vitamin szint, a BMD, a csontmarkerek ill. a FRAX érték közül?

A **második célkitűzés** a szklerosztin, oszteoprotegerin és a nukleáris $\kappa\beta$ -faktor ligand receptor aktivátor (RANKL) szintek vizsgálata volt. Az eredmények alapján elsőként írta le, hogy a szklerosztin az életkorral emelkedik és a normális BMD esetén magasabb értékek mérhetőek. Megállapította továbbá, hogy az OPG szint növekszik, a RANKL/OPG hányados viszont csökken az életkorral.

A **harmadik célkitűzés** a csontmarkerek vizsgálata volt a várandósság során. Az eredmények alapján az OC és PICP (I.típusú kollagén C terminális propeptidje) szintek megemelkedtek a terhesség során és magasak maradtak a szünetést követően 6 hónapig. A rezorptios markerek a szüléskor emelkedettek voltak, majd normalizálódtak. Az eredmények alátámasztják azt, hogy a magzat csontfejlődéséhez szükséges kalcium az anyai csontrendszer rovására biztosítható.

Kérdésem az, hogy ezt fiziológiásnak kell e tekinteni, vagy van a fokozott csont átépülésnek egy olyan mértéke, ami már patológiás? Lehetne e kedvezően befolyásolni ezt a folyamatot több kalcium és D vitaminpótlással? Milyen adagú D vitaminpótlást tart indokoltnak a várandósság és a laktáció idején?

A **negyedik célkitűzés** a PINP (I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidje) és β -CTx (I. típusú kollagén C-terminális telopeptidje) vértesztekkel kapott eredményeinek összehasonlítása volt.

A szerző több irodalmi közlés ill. multicentrikus study elemzése során összehasonlította a két csontmarker különböző módszerekkel végzett vizsgálatának eredményeit. Ezek alapján jelentős eltérések is igazolódtak a kereskedelmi forgalomban lévő assay-fajtái között.

A szerző megállapítja, hogy egy referencia-mérési eljárás egy szintetikus β -CTx molekulával, - mint mérés standard használatával- alkalmas lenne a vérből β -CTx mérésére.

Az **ötödik célkitűzés** a transzdermális ösztrogén bevitel csontanyagcsere-hatásainak vizsgálata volt posztmenopauzális SLE-betegekben. A klinikai vizsgálatban megállapították, hogy az ösztrogénhiányos tünetek csökkentésére alkalmazott transzdermális ösztrogén tapasz véd a csontvesztés ellen posztmenopauzális SLE-beteg nőkben mind a gerinc, mind a

combnyak állományában. Újabb MHT-tanulmányok a kezelés hatására megnövekedett stroke-, emlőrák-, szív-érrendszeri betegség- és trombo-embolia kockázatot igazoltak, ezért széleskörű alkalmazása nem várható ebben a betegcsoportban.

Milyen eredmények ill. mellékhatások vannak MHT kezelésekkel nem SLE miatt kezelt osteoporotikus nők esetén?

A **hatodik célkitűzés** a D-hipovitaminózis prevalenciájának és a csontanyagcsere jellemző folyamatainak vizsgálata volt 2. típusú cukorbetegekben és arthritis psoriatica-betegekben. D-hipovitaminózisos személyek esélye 2,3-szor nagyobbak bizonyult T2DM betegségre, mint a kontrolloké. Ugyanakkor a BMD szignifikánsan magasabb volt a diabetezes csoportban, mint az egészségesekben. A FRAX értékek viszont nem voltak eltérőek a két csoport között. Az inzulin kezelés alapján felosztott T2DM csoportban nem volt különbség a sem a BMD sem a csontmarkerekben kivéve az inzulinkezelés mellett magasabb osteocalcin szintet.

Sajnos a 121o. 4.6.1.fejezet első bekezdés utolsó mondata nem érthető teljesen, ezért nem világos, hogy milyen adatból vonta le a szerző azt a megállapítást, hogy 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”. Kétségtelen, hogy vannak az idézett hivatkozásokban ezt alátámasztó közlemények is.

Egyértelműbben – és adatokkal alátámasztott- az a diszkusszióban tett megállapítása, hogy az 50 évnél idősebb T2DM-beteg férfi kohorszban megnövekedett a BMD, alacsonyabb a csont turnover és az, hogy nincs szignifikáns különbség az inzulin-kezelt és -nem kezelt alcsoportok között.

A szerző magáénak mondhatja az irodalomban közölt egyik legnagyobb létszámú férfi pikkelysömörös artritiszes betegcsoportban elvégzett – a D-hipovitaminózis növekedett prevalenciáját igazoló - közleményt.

A PsA-pQCT tanulmány elsőként hasonlította össze PsA-betegekben a BMD-t és a volumetrikus denzitást, és igazolt szignifikáns korrelációt a két módszerrel kapott eredmények között. Továbbá szignifikánsan megnövekedett 10 éves törési kockázatot számított PsA betegekben FRAX-módszerrel az összes jelentős törésfajtákra.

A vizsgált PsA betegcsoportban a betegség-aktivitás független előjelző tényezője volt a - FRAX által jelzett - jelentős osteoporotikus töréseknek. Az együttes volumetriás és a BMD mérések, javították az alacsony csontdenzitású egyének felismerést.

A szerző azonban megállapítja azt is, hogy a kontrollképzés módja hibalehetőséget rejt és az eredmények érvényességét nagyobb létszámú tanulmánynak még meg kellene erősítenie.

A **hetedik célkitűzés** a 25-hidroxivitamin D meghatározások standardizációja volt. Tanulmányukban egyszerű megközelítést javasolt a 25OHD értékek standardizációjára oly módon, hogy a DEQAS felmérés eltérését nézték a NIST célértéktől. Ezáltal a nyers adatok azonnali korrekciójára és kiadására nyílt lehetőség. Ez a módszer más laboratóriumok számára is javasolható eljárás. Ez kiegészítheti, vagy alternatívát jelenthet a VDSP protokollnak, melyet hazánkban anyagi okokból nem alkalmaznak.

Bár az irodalmi adatok is megerősítik, hogy a 25OHD tartósan stabil marad -70°C-on tárolva, a szerző mégis fenntartásokat fogalmazott meg, a 6 éves, -70°C-on tárolt minták

stabilitásával kapcsolatban. Végeztek stabilitási mérést is a korábban alkalmazott módszerrel?

A **nyolcadik célkitűzés** a 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció elemzése volt. A szerző megállapította, hogy 25OHD koncentrációknak nincs állandó állapota az idő folyamán (jelentős szezonális ingadozást mutat), és hogy bármely modell alkalmazása, amely egy homeosztatisz állandó érték körüli random variációra épül, megalapozatlan.

Mi a szerző véleménye arról, hogy a 75 nmol/l alatti értéket az irodalom mégis hypovitaminózisnak tartja, és milyen magas 25OHD szint esetén jön szóba a D vitamin intoxikáció megállapítása?

A **kilencedik célkitűzése** a diéta és a földrajzi szélesség kapcsolata volt a 25OHD koncentrációk értékével Közép-Kelet Európában. Az adatok ismertetése alapján talán helyesebb lett volna, ha vizsgálati régióként a célkitűzésben a Közel-Kelet és Európa szerepel, - hasonlóan az értekezés alapjául szolgáló közleményhez-, mivel a feldolgozott adatok ebből a lényegesen nagyobb régióból származtak.

Azonban ha elfogadjuk a szerző 7 és nyolcadik pontban tett megállapításait 25OHD szintek meghatározásának nagy szórásáról, akkor ebben a régióban elvégzett 25OHD mérések nagy szórása megkérdőjelezi az értékek használhatóságát.

Az étrend vizsgálatára egy FAO adattárból a népesség átlagos táplálékfelvételét használták. Jól ismert tény, hogy a napjainkban fogyasztott táplálékokból csak a tengeri halak, az erdei gomba ill. a szabadban tartott állatok teje, tojása tartalmaz természetes D vitamint olyan mértékben, ami befolyásolja a vérszintet. Nem szerepelt ugyanakkor a lakosság D vitamin pótlásának figyelembe vétele a vizsgálatban.

Milyen összefüggést ismer a szerző a FAO adattárban megadott ételek és azok kalória, zsír, fehérje stb. tartalma és a D vitamin tartalmuk között?

Az effektív UVB sugárdózisokat az atmoszféra külső határán mért adatokból számolták a téli napforduló napján, amikor a Földre jutó UVB sugárzás D vitaminképző ereje elhanyagolható Európában.

Milyen feltételezés alapján választották a téli napfordulót az UVB sugárzás és a D vitaminszint változása közti korreláció vizsgálatára?

A vizsgálatba bevonásra kerültek 20 évnél idősebb adatok is, ami nyilván nem jellemző napjainkra. 20 év alatt a D vitaminhiány előfordulási gyakorisága jelentősen változott kedvezőtlen irányba, ezért az adatok nem vethetők össze egymással ilyen nagy időtávban. A hatalmas adathalmaz és korrelációs koeficiensek eredményének tömege alapján a szerző megállapítja végül, hogy az étrendi tényezők 15 országban korrelálnak a földrajzi szélességgel, míg 19 országban nem.

Milyen feltételezés alapján merült fel, hogy lehet összefüggés az étrend és a földrajzi szélesség között?

19 országban a szerző szerint az „adatok azt sugallják”, hogy a tengeri hal a legfontosabb étrendi összetevő a 25OHD szint befolyásolásában. A kapott eredményt én elfogadom, de ezt a következtetés legalább ötven éve ismerjük.

A bíráló véleménye szerint a 25OHD szint alapvetően a képződött D vitamin mennyiségétől valamint a 25OHD metabolizmusának mértékétől függ. A képződésért az UVB sugárzás mértéke, ill. az azt befolyásoló tényezők (szélességi fok, bőrpigmentáció, ruházat stb.) felelősek több mint 90 %-ban. Emellett elenyésző szerepe van a táplálkozásnak. Ugyanakkor a metabolizmus fokozását jelentősen befolyásolja a táplálkozás. Az utóbbi 40 évben a lakosság étrendje jelentősen eltolódott az iparilag feldolgozott élelmiszerek fogyasztásának irányába, melyek jelentős mértékű foszfát tartalmú adalékanyagokat tartalmaznak. A túlzott foszfátbevitel kiürítéséért felelős FGF23 (leánykori nevén: foszfátürítő hormon) jelentős mértékben fokozza a 25OHD lebomlását. Vagyis az elmúlt három-négy évtized táplálkozási szokásainak változása áll, az évtizedeken át csökkenő D vitaminszint hátterében. Ezért kilátástalan vállalkozás a 25OHD szintet korreláltani csak a szintézist vagy a bevitt befolyásoló tényezőkkel, a metabolizmust befolyásoló tényezők mellőzésével.

A tizedik célkitűzése bizonyítékok bemutatása volt a D-vitamin adás hatékonyságáról a COVID-19 fertőzések és halálozás kockázatának csökkentésében

A szerző irodalom áttekintés alapján alakította ki véleményét. Az eredeti célkitűzéstől eltérve azonban nagyszámú információt gyűjtött egyéb vírus megbetegedésekről. Majd a megbeszélés során hosszan taglalta a D vitaminadagolással kapcsolatos szerzteágazó és ellentmondásos irodalmi adatokat. A megállapítások közt írja le, hogy a magasabb 25OHD szint csökkenti a fertőzések és a halálozás kockázatát általában. Az optimális sávot pedig 40-60ng/mL (100-150mmol/L) értékek között jelölte meg..

A COVID -19 fertőzés és halálozás kockázat csökkentésére vonatkozó bizonyíték bemutatása azonban nem szerepel sem az eredmények, sem a megbeszélés fejezetben. A szerző az értekezés alapjául szolgáló és a 10. célkitűzéssel azonos című közleményében szintén nem sikerült az ígért bizonyítékokat megtalálni.

A szerző melyik saját vagy irodalmi adatról gondolta, hogy bizonyítja a D-vitamin adás hatékonyságát a COVID-19 fertőzések és halálozás kockázatának csökkentésében?

Összefoglalva megállapítható, hogy Dr. Bhattoa Harjit Pál „A csontanyagcsere és a D-vitaminháztartás biokémiai markerei. Analitikai kihívások, klinikai alkalmazások”-című akadémiai doktori értekezése úgy tartalmilag, mint formailag megfelel a követelményeknek, számos új ill. újszerű nemzetközileg is jegyzett, nívós folyóiratban közölt eredményt tartalmaz. A felmerülő kérdések megválaszolása után opponens kész a disszertációt megvitatásra ajánlani és javasolja jelölt részére az akadémiai doktori cím megadását.



Dr Szabó András