



## Válasz Dr. Kolev Kraszimir opponensi véleményére

Nagyon köszönöm Kolev Kraszimir Professzor úrnak, hogy doktori értekezésemet részletesen áttanulmányozta, hálásan köszönöm méltató szavait és építő jellegű észrevételeit. Megjegyzéseire az alábbiakban szeretnék válaszolni:

**1) Azzal, hogy a cisztás fibrózis potenciális biomarkerének vizsgálatát is beemelte a dolgozatba, a jelölt olyan kihívás elé állította magát, amit nem sikerült maradéktalanul megoldani: a dolgozatnak ez a relatíve kis része nehezen illeszthető be a kardiovaszkuláris problematikába, amely dominálja az értekezést.**

1) Sok fejtörést okozott a disszertáció anyagának összeállításakor, hogy mely kutatási témáimból állítsam össze az értekezésemet. A cisztás fibrózissal kapcsolatos tanulmányunk az egyik legkedvesebb számomra, mert valóban elsőként sikerült a HE4 fehérje emelkedett koncentrációját kimutatni ezen betegek szérum mintáiból (Nagy B Jr, et al. *Chest*. 2016;150(3):661-72.), igazolni, hogy a krónikus gyulladással környezetben a légúti epithelsejtek felelősek a túlzott termeléséért (Bene Z, et al. *Front Pharmacol*. 2021;12:592184.), és alkalmas biomarkernek bizonyult a CFTR-specifikus gyógyszeres kezelés hatékonyságának a monitorozására (Nagy B Jr, et al. *J Cyst Fibros*. 2019;18(2):271-7., Pócsi M, et al. *J Cyst Fibros*. 2023;22(6):1085-92.). Miután a 6 bemutatásra kerülő témakörben a közös pont a gyulladás okozta sejtdiszfunkció és ennek detektálására használt új, érzékeny laboratóriumi paraméter(ek) tesztelése volt, ezért döntöttem úgy, hogy végül beillesztem a dolgozatba ezeket az eredményeinket is. Ráadásul a dolgozat levéglegesítése óta további érdekes összefüggéseket mutattunk ki a HE4 patobiokémiai szerepére vonatkozólag, illetve vizsgáltuk más típusú CF-es mintákban is. Végül a legújabb álláspont szerint a CF és a kardiovaszkuláris betegségek témaköre egyáltalán nincs már olyan távol egymástól, mint ahogyan ezt sokáig gondoltuk: azáltal, hogy a betegek élethossza jelentősen megnőtt hála az új CFTR-specifikus gyógyszereknek, ezek a betegek is jobban ki lesznek téve az öregedéssel együtt járó komorbiditásoknak, mivel a krónikus (szisztémás) gyulladás fokozatosan endothelsejt károsodáshoz, oxidatív stresszhez és vaszkuláris átépüléshez vezethet, ami a hipertónia kialakulásának kedvez (Ticona JH, et al. *Life (Basel)*. 2023;13(6):1305.).



2) A dolgozat formai gyengeségként értékelem a bevezetés és a módszertani rész túlzott terjedelmét. A bevezetés több olyan részletre is kiterjed, amely csak áttételesen kapcsolódik a megfogalmazott célkitűzésekhez. Mivel az értekezésben ismertett vizsgálatoknál alkalmazott módszerek részletes leírása megtalálható a disszertáció alapját szolgáló eredeti közleményekben, előnyösebb lenne, ha ez a fejezet inkább fókuszáltan csak módszerek elvi alapjait, illetve kritikai értékelésüket ismertetné.

2) A 269 számozott oldallal bíró disszertációban a részletekbe menő *Bevezetés* rész 36 oldal, míg az *Anyagok és módszerek* fejezet 20 oldal terjedelmű lett. Az előbbi oka, hogy szerettem volna a 6 különböző témakör eddigi ismeretanyagából egy olyan összefoglalót készíteni, melynek segítségével az Olvasó el tudja helyezni az eredményeinket a rendkívül szövevényes irodalomban. A módszerek fejezetben bemutatott laboratórium technikák széles spektruma és a metodikák laboratóriumunkba újonnan történt beállításának finom részletei úgy éreztem, hogy a disszertáció egyik erőssége, amit szerettem volna ily módon kihangsúlyozni. Egyúttal rá kívántam irányítani arra a figyelmet, hogy 1-1 problémakört igyekeztünk több oldalról is megvilágítani, ahogy erre Professzor úr is kitér a bírálataiban. A módszerek kritikai értékelésére valóban nem tértem ki, mivel az irodalomból már ismert *in vitro* kísérletes körülményeket alkalmaztam hasonló tudományos célkitűzések igazolása érdekében.

3) A bemutatott ábrák jó minőségűek, de egyes esetekben más formátumban illusztratív jellegük előnyösebb lenne. Pl. a 34., 36., 37. ábrán az abszcisszán kategorikus változó szerepel, de az értékek folytonos vonallal vannak összekötve, ami átmenetet sejtet a kategóriák között. Ehelyett célszerűbb lenne az azonos típusú adatokat prezentáló 35. ábrán alkalmazott oszlopdiagram formátumot használni, mert így egyértelmű a kategóriák független jellege.

3) Valóban szerencsésebb lett volna oszlopdiagramot használni a fent említett ábrákon az adatok bemutatására. Sajnálatos módon az eredeti közleményben szereplő 3 ábra is már ilyen megjelenésű volt, ezért a disszertációban az egységes megjelenítés miatt a magyarosított ábrákon már nem szerettem volna szerkezeti változtatásokat végezni.

4) A jelölt által felsorolt új megállapítások közül csak egyet nem tartok kiemelésre méltónak: „Obez betegekben szignifikáns pozitív összefüggés mutatható ki a carotis



**intima-média vastagság (IMT) értéke, valamint a thrombocyta P-selectin expresszió, a szolubilis P-selectin koncentráció és a vérlemezke mikropartikulák mennyisége között.” Ennek oka, hogy bár a felsorolt összefüggések statisztikai szignifikanciát mutatnak, az alkalmazott lineáris regressziós modellekben a korrigált R-négyzet értékek (durva becslésem szerint, mert a jelölt ezeket nem közli) a függő változók varianciájának legfeljebb 10%-át magyarázzák, vagyis nem túl erős hatásról tanúskodnak.**

4) Már obezításban (tehát nemcsak 2-es típusú diabetes mellitusban) kialakuló fokozott thrombocyta aktiváció ténye még kevésbé volt ismert és igazolt a vizsgálatunk idején, ezért gondoltuk fontosnak mind humán mintákban, mind állatkísérletes modellben értékelni a vérlemezkek kóros funkcióját diszlipidémiában. A thrombocyták emelkedett aktiváltsági állapota megnövelheti annak valószínűségét, hogy trombotikus szövődmények kialakulhassanak, valamint a tartós inflammatorikus vaszkuláris környezet fenntartásán keresztül hozzájárulhat az érfal átépüléséhez, a carotis intima-media rétegeinek megvastagodásához (IMT), ami a korai érlemezésedés egyik fontos tényezője és egyben a kardiovaszkuláris betegségek független előre jelzője (Bucciarelli P, et al. *Thromb Haemost* 2002;88:961-6., Skilton MR, et al. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2(2):176-82.). Ennek igazolására a 3 legfontosabb *ex vivo* vérlemezke aktivációs markert korreláltattuk az IMT értékével egy nagyszámú obez betegcsoportban. Azt tapasztaltuk, hogy a thrombocyta aktivációt követően percekben belül a sejtfelszínre kikerülő P-selectin expresszió mértéke, ezen receptor szolubilizált formájának plazmakoncentrációja, valamint az aktiválódott vérlemezkekről leváló mikropartikulák (PMP) mennyisége bár mérsékelt „r” érték mellett, de statisztikailag szignifikáns módon korreláltak egymással. Ezek az összefüggések nagyságrendileg és a szignifikancia mértékében megfeleltek mások vizsgálataival. A felszíni P-selectin pozitivitás %-os értéke és az IMT ( $r=0,339$ ,  $p<0,0001$ ), valamint az érfal merevségi mutató („stiffness  $\beta$ ”) ( $r=0,205$ ,  $p<0,0001$ ) között szoros kapcsolat volt 2-es típusú diabeteses, magasvérnyomás betegségben és súlyos lipideltéréseket mutató nagy betegkohorszabban (Koyama H, et al. *Circulation*. 2003;108(5):524-9.). Ischémiás stroke miatt kezelt betegekben az IMT és a PMP között is hasonló mértékű korrelációt ( $r=0,23$ ,  $p<0,01$ ) találtak (Lukasik M, et al. *Platelets*. 2013;24(1):63-70.). A thrombocyták reaktivitásának mértékét szintén jelző MPV (átlagos vérlemezke térfogat) paraméter és a carotisfal vastagság (CCA) között már kissé



erősebb, statisztikailag jelentős összefüggést publikáltak obez tinédzserekben ( $r=0,439$ ,  $P=0,0001$ ) (Arslan N, et al. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(11):963-8.). A különböző adipokinek kóros expressziója és a vérlemezke aktiváció mértéke közötti összefüggések analizésével a közelmúltban a mi munkacsoportunk tovább foglalkozott, és szignifikáns reláció került leírásra a leptin és a PMP mennyisége ( $r=0,44$ ,  $p<0,001$ ), a resistin és a szolubilis P-selectin koncentráció ( $r=0,31$ ,  $p<0,001$ ), valamint az adiponectin és a PMP szintek ( $r= -0,36$ ,  $p<0,001$ ) között egy obez felnőttpopulációban többségükben atherosclerosisos komorbiditások jelenlétében (Csongrádi É, et al. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017;27(6):571-580.). Mindezen klinikai adatok arra utalnak, hogy a vérlemezkek kórosan aktív működése az egyik fontos, de nem kizárólagos tényezője lehet az IMT kialakulásának. A fenti evidenciáktól függetlenül elfogadom Professzor úr javaslatát, hogy a disszertáció legfontosabb megállapításai között ne szerepeljen a szóban forgó megállapítás, aminek megerősítésére további vizsgálatok szükségesek.

Végezetül még egyszer nagyon köszönöm Professzor úr munkáját, elismerő véleményét és támogatását. Tisztelettel szeretném kérni válaszaim szíves elfogadását.

Debrecen, 2024. szeptember 10.

Dr. Nagy Béla