

Dr. Balázs Csaba egyetemi tanár opponensi véleményére adott válasz

Köszönöm és megtisztelő számomra, hogy az értekezés célkitűzéseivel, a célkitűzésekben szereplő kérdések megközelítési módjával, az alkalmazott módszerekkel és a levont következtetésekkel egyetértett, eredményeim döntő többségét újszerűnek ítélte meg és azokat elfogadta.

Különösen megtisztelő számomra, hogy tudományos munkásságom alapján, Holló István Professzor által több mint 50 éve alapított kutató csoport, tudományos műhely méltó tagjának tart.

Az opponensi véleményben megfogalmazott kritikai észrevételekre és megjegyzésekre adott válaszaim a következők:

1, Takács István dr. vizsgálta-e ezt az összefüggést, megfigyelte-e a DHEA kedvező hatását, lehet-e összefüggés a DHEA gén és az osteoporosis gének expressziójában, ill co-expressziójában? Alkalmasnak tartja-e a DHEA kezelést az osteoporosisban?

Teljes mértékben egyetérték az opponens azon megállapításával, hogy a csontanyagcsere és az immunológia közötti kapcsolat rendkívül szoros. Napjainkban az osteoimmunológia az egyik leggyorsabban fejlődő tudományterület. Munkacsoportunk korábbi vizsgálatában, amely ebben az értekezésben nem szerepel, az osteoporosisban szenvedő és egészséges postmenopausás nők génexpressziós profilját hasonlítottuk össze. Szignifikáns különbséget találtunk az immunválaszban szereplő gének expressziós mintázatában a két csoport között.
[1]

Az opponens dehidroepiandrosteronnal (DHEA) kapcsolatos kérdései azért is különösen érdekesek számomra, mert a mellékvese által termelt androgének és az osteoporosis kialakulásának kapcsolatát világon elsőként munkacsoportunk alapítója Holló István vizsgálta. [2] Azóta munkacsoportunk több nemzetközileg is jelentős megállapítást tett. [3, 4] Magam azonban nem voltam részese ezeknek a korábbi kutatásoknak, ezért ezek nem is voltak értekezésem részei.

Ez idáig kevés tudományos vizsgálat kereste arra a kérdésre a választ, hogy lehet-e összefüggés a DHEA kezelés és a csontanyagcserében részvevő gének expressziója között. Állatkísérletes modellben DHEA kezelés növelte a RunX2, a kollagén1, az osterix és az

osteocalcin gének expresszióját, növelte az osteoblastok számát. [5] Emellett a RANK-RANKL-OPG jelátviteli útra gyakorolt hatásán keresztül gátolta a csont reszorpcióját. [6] Tehát a DHEA kezelés biztosan hatással van a csontanyagcserében részvevő gének expressziójára, de ennek pontos megismeréséhez további vizsgálatok szükségesek.

Az osteoporosisban évtizedek óta vannak terápiás próbálkozások a DHEA kezeléssel. Ennek háttérében az áll, hogy összefüggést találtak a szérum DHEA (DHEAS) szint és a csontdenzitás között. Csupán ebben az évben két nagy vizsgálat igazolt összefüggést a DHEA (DHEAS) és a csont ásványianyag-tartalom, valamint a csontok törékenysége között. [7, 8] Ezen összefüggés ellenére a terápiás próbálkozások nem adtak egyértelmű eredményt, ami megkérdőjelezi az osteoporosisban adott DHEA kezelés gyakorlati hasznát. [9, 10] A legutóbbi, hét klinikai vizsgálatot elemző metaanalízis alapján a DHEA pótlásnak nincs szignifikáns hatása a csont mennyiségére postmenopausás nőkben. [11] Hasonló eredményre jutott az idős férfiak vizsgálatait elemző metaanalízis is. [12]

Összességében jelenleg nem tartom indokoltnak a csontmennyiség növelése vagy a csonttörések megelőzése érdekében alkalmazott DHEA kezelést.

2, Mi lehet a reaktív oxidatív folyamatok, az antioxidánsok szerepe az osteoporosis kezelésében és megelőzésében. Javasol-e a szerző antioxidáns kezelést?

Az oxidatív stressz fontos szerepet tölt be az involutios osteoporosis patogenesisében. Ennek részleleit az értekezés I.1.1.3.A. fejezetében foglaltam össze. Az összes patogenetikai tényező közül talán erről tudunk a legkevesebbet. Ennek oka valószínűleg az, hogy egy az egész életen át érvényesülő tényezőről van szó, melynek a lassú anyagcseréjű csontban betöltött szerepét modellezni vagy mérni rendkívül nehéz. Legutóbb a témában megjelent metaanalízis eredményei alapján is az oxidatív stressz és a csonttrikulás kialakulása között egyértelmű a kapcsolat. Az oxidatív stressz biomarkerei közül az emelkedett homocisztein és nitrogénoxid szintek, valamint a csökkent szuperoxid-dizmutáz, glutation-peroxidáz és a teljes antioxidáns kapacitás mutatott összefüggést a postmenopausás osteoporosis kialakulásával. [13]

Számos diétás tényezőről (teák, gyümölcsök, flavonoidok) igazolták, hogy előnyös a csontanyagcsere szempontjából, bár ezek döntő többsége kis esetszámú, rövid vizsgálat volt. Véleményem szerint az antioxidánsok az osteoporosis megelőzésében játszhatnak szerepet. Annak megítélése, hogy mely antioxidánst és milyen hosszan javasolt használni, még további kutatások témája lesz.

Ugyanakkor olyan meggyőző tudományos bizonyíték, ami tartós antioxidáns bevitel/kezelés mellett a csontok állapotának javulását, a törési kockázat csökkenését igazolta volna nem áll rendelkezésünkre, ezért a csontritkulás kezelésben az antioxidáns adása nem tartható hatékony kezelésnek.

3, Mely epigenetikai tényezők játszhatnak szerepet a csontanyagcserében és van-e ezeknek klinikai jelentőségük?

Mindazon környezeti hatások, melyek nincsenek hatással a DNS lánc nukleotid sorrendjére, de génműködésre ható változásokat idéznek elő, vagyis az epigenetikai tényezők, egyértelműen hatással vannak a csontanyagcserére. A DNS metiláció, a hiszton acetiláció és metiláció, illetve a mikro RNS hatások mind befolyásolják a csont működését. Ez az osteológia kutatások egyik legújabb, legforrongóbb területe.

Saját vizsgálataimban nem foglalkoztam a csontanyagcsere epigenetikai vonatkozásaival, ezért az értekezésem sem tartalmaz ezzel kapcsolatos adatokat.

A csonttal kapcsolatos epigenetikai kutatások klinikai jelentőségét például a következő adatok támasztják alá:

- osteoporosisban szenvedő betegek csontbiopsziás mintáiban 63 gén metilációs mintázata szignifikánsan különbözött a korban, nemben illesztett egészséges egyénétől. Ez a különbség a csontdenzitás változásának 19 %-át magyarázta. [14]
- a mesenchymális őssejtek osteoblast irányú differenciálódását azok DNS metilációja befolyásolja. [15]
- az osteoblastműködést alapvetően befolyásoló Wnt szignálút egyik legfontosabb szabályozóját a sclerostint kódoló génnek, az SOST-nek az expresszióját a promoter régió metilációja is szabályozza. A hypermetiláció gátolja a gén átíródását. [16]
- Az osteoclastok érését szabályozó RANKL átíródását a gén promoter régiójának metilációja szabályozza. [17]
- A humán hiszton-deacetiláz (HDAC) 1-es típus szelektív gátlása gátolja az osteoclastok differenciálódását. [18]
- Azokban a kísérleti egerekben, melyekben a HDAC3 gént, specifikusan az osteoblastokban eltávolították, a csont mennyisége csökkent. [19]
- Az osteoblast differenciálódáshoz szükséges egyik legfontosabb transzkripciós faktor a RunX2. A RunX2 átíródását alapvetően befolyásolják a mikro RNS-ek. [20]

4, A Glükokortikoidok csontanyagcserére kifejtett hatásaira több helyen kitér a szerző, de a glükokortikoid receptor polimorfizmusát nem vizsgálta. Mi lehet ennek az oka?

A glükokortikoid indukálta osteoporosis az egyik leggyakoribb és legsúlyosabb következményekkel járó szekunder osteoporosis típus. Ezért az értekezés általános bevezető része tartalmazta ennek a leírását is. Habár a glükokortikoid receptor polimorfizmusainak klinikai jelentőségéhez nem fér kétség, magam, kutató munkám során a csúcs-csonttömeget befolyásoló tényezőkkel és a postmenopausás osteoporosisal foglalkoztam. Kutatómunkám nem terjedt ki a szekunder osteoporosisok vizsgálatára.

Összefoglalva köszönöm dr. Balázs Csaba egyetemi tanár elismerő opponensi véleményét és minden részletre kiterjedő bírálatát.

Kérem, hogy az opponensi bírálatra adott válaszomat elfogadni szíveskedjék.

1. Balla, B., et al., *Transcriptional profile of immun system-related genes in postmenopausal osteoporotic versus non-osteoporotic human bone tissue*. *Calcified Tissue International*, 2008. **82**: p. S137-S137.
2. Hollo, I., T. Feher, and J. Szucs, *Serum dehydroepiandrosterone, androsterone and cortisol level in primary postmenopausal and other type osteoporosis*. *Acta Med Acad Sci Hung*, 1970. **27**(2): p. 155-60.
3. Lakatos, P., et al., *Androgens and Bone-Mineral Content in Patients with Subtotal Thyroidectomy for Benign Nodular Disease*. *Acta Medica Hungarica*, 1989. **46**(4): p. 297-305.
4. Szathmari, M., et al., *Dehydroepiandrosterone sulphate and bone mineral density*. *Osteoporos Int*, 1994. **4**(2): p. 84-8.
5. Qiu, X.M., et al., *DHEA promotes osteoblast differentiation by regulating the expression of osteoblast-related genes and Foxp(3+) regulatory T cells*. *Bioscience Trends*, 2015. **9**(5): p. 307-314.
6. Wang, Y.D., et al., *Dehydroepiandrosterone Inhibited the Bone Resorption through the Upregulation of OPG/RANKL*. *Cellular & Molecular Immunology*, 2006. **3**(1): p. 41-45.
7. Ohlsson, C., et al., *Low Serum DHEAS Predicts Increased Fracture Risk in Older Men: The MrOS Sweden Study*. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2017. **32**(8): p. 1607-1614.
8. Rabijewski, M., L. Papierska, and P. Piatkiewicz, *An association between bone mineral density and anabolic hormones in middle-aged and elderly men with prediabetes*. *Aging Male*, 2017. **20**(3): p. 205-213.
9. Jankowski, C.M., et al., *Effects of dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone mineral density in older adults: A randomized, controlled trial*. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2006. **91**(8): p. 2986-2993.
10. Weiss, E.P., et al., *Dehydroepiandrosterone replacement therapy in older adults: 1- and 2-y effects on bone*. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2009. **89**(5): p. 1459-1467.
11. Elraiyah, T., et al., *The Benefits and Harms of Systemic Dehydroepiandrosterone (DHEA) in Postmenopausal Women With Normal Adrenal Function: A Systematic Review and Meta-analysis*. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2014. **99**(10): p. 3536-3542.
12. Corona, G., et al., *Dehydroepiandrosterone Treatment in Elderly Men: A Meta-Analysis Study of Placebo Controlled Trials*. *Journal of Sexual Medicine*, 2013. **10**: p. 266-266.
13. Zhou, Q.Z., et al., *Oxidative Stress-Related Biomarkers in Postmenopausal Osteoporosis: A Systematic Review and Meta-Analyses*. *Disease Markers*, 2016.
14. Reppe, S., H. Datta, and K.M. Gautvik, *The Influence of DNA Methylation on Bone Cells*. *Current Genomics*, 2015. **16**(6): p. 384-392.
15. Kang, M.I., et al., *Transitional CpG methylation between promoters and retroelements of tissue-specific genes during human mesenchymal cell differentiation*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2007. **102**(1): p. 224-239.
16. Reppe, S., et al., *Methylation of Bone SOST, Its mRNA, and Serum Sclerostin Levels Correlate Strongly With Fracture Risk in Postmenopausal Women*. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2015. **30**(2): p. 249-256.
17. Delgado-Calle, J., et al., *Role of DNA methylation in the regulation of the RANKL-OPG system in human bone*. *Epigenetics*, 2012. **7**(1): p. 83-91.

18. Cantley, M.D., et al., *Inhibitors of Histone Deacetylases in Class I and Class II Suppress Human Osteoclasts In Vitro*. Journal of Cellular Physiology, 2011. **226**(12): p. 3233-3241.
19. McGee-Lawrence, M.E., et al., *Histone deacetylase 3 is required for maintenance of bone mass during aging*. Bone, 2013. **52**(1): p. 296-307.
20. Zhang, Y., et al., *A program of microRNAs controls osteogenic lineage progression by targeting transcription factor Runx2*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011. **108**(24): p. 9863-9868.