

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Oponentský posudok na habilitačnú prácu

MUDr. Václava Šimánka, PhD.

z lekárskej fakulty Univerzity Karlovy v Plzni

téma habilitačnej práce

“Vitamín D-od epidemiologické studie k personalizované medicíne”

Predložená habilitačná práca na získanie vedecko-pedagogického titulu docent v odbore “Hygiena, preventívni lékařství a epidemiologie” je napísaná na 107 stranách, je doplnená 5 obrázkami, 33 tabuľkami, 7 grafmi a prílohou publikácie autora habilitačnej práce. Autor v úvode dizertačnej práce podal prehľad súčasných poznatkov riešení problematiky a preukázal vysokú znalosť problematiky, čo podložil citovaním 222 prác iných autorov.

Práca bola riešená v rámci projektu inštitucionálneho výskumu Fakultnej nemocnice Plzeň FNPI (00669806) a projektu BBMRI-CZ:Biobank network-a versatile platform for the research of the etiopathogenesis CZ.02.1.01/0.0/16_013/000167 a LM2015089.

Za teoretickým úvodom a zhrnutím dosiahnutých výsledkov nasleduje aj dôležité doporučenie pre praktické využitie získaných výsledkov. V posledných rokoch sa ukázalo, že nedostatok vitamínu D je spojený so zvýšeným výskytom ako aj s progresiou širokého spektra chorôb vrátane osteoporózy, krivice, kardiovaskulárnych chorôb, autoimunitných chorôb, roztrúsenej sklerózy a rakoviny. Napriek významnému pokroku v analýze metabolitov vitamínu D a rozšíreniu našich patofyziologických poznatkov o vitamíne D zostáva hodnotenie stavu vitamínu D stále náročnou a čiastočne ešte nedoriešenou otázkou. Súčasné usmernenia od vedeckých orgánov, ktoré odporúčajú meranie 25-hydroxy vitamínu D (25-OHD) v krvi ako preferovaný test, ale rastúce dôkazy však naznačujú určité obmedzenia tohto testu, vrátane analytických aspektov a interpretácie nameraných výsledkov. Vitamín D sa meria väčšinou pomocou Elisa metód a výsledok z laboratória je však suma vitamínu D (D2+D3). Na saturáciu dostatočného množstva vitamínu D pacienti používajú vitamín D3, ale aj vitamín D2, ktorý má však nižšiu účinnosť oproti vitamínu D3.

Uvedená práca rieši zaujímavú a veľmi dôležitú problematiku hladiny vitamínu D v populácii a aj dôležitosť merania vitamínu D pre zlepšenie zdravotného stavu obyvateľstva aj v prípade infekčných a aj onkologických ochorení.

Problematika je zaujímavá aj z toho dôvodu, že v dostupnej literatúre nie sú jednoznačné zistenia a napriek významnému pokroku v analýze metabolitov vitamínu D a rozšíreniu našich patofyziologických poznatkov o vitamíne D zostáva hodnotenie stavu vitamínu D náročnou otázkou a je potrebný ešte ďalší výskum, nakoľko výsledky práce niektorých autorov nie sú celkom jednoznačné. A práve tu je dôležitý a

prínosný aj prístup MUDr.Šimánka k riešeniu tohoto problému. Autor aj na základe vlastnej publikovanej práce ukázal dôležitosť stanovenia vitamínu D v bežnej populácii, ale aj u onkologických pacientov.

Súlad obsahu práce s témou a splnenie definovaných cieľov

Zvolená téma habilitačnej práce korešponduje s obsahovým spracovaním problematiky. Téma je spracovaná formálne na dobrej úrovni, je napísaná zrozumiteľne, logicky a je doplnená vhodnou obrazovou dokumentáciou.

Pracovný postup merania vitamínu D

Predanalytická príprava merania vitamínu D bola správna (odber krvi, spracovanie krvi).

Merania hladín vitamínu D boli robené vo Fakultnej nemocnici v Plzni metódou chemoluminiscencie na paramagnetických časticách na analyzátore Beckman Coulter Unicel Dxl 800 použitím reagečnej súpravy Access 25(OH) Vitamin D Total.

Meranie bolo robené správne podľa Good Laboratory Praxis (interná kontrola kvality bola robená pomocou kontrolného séra firmy Bio-Rad na dvoch hladinách) a bola robená aj externá kontrola kvality pomocou SEKK a DEQUAS.

Habilitačná práca je rozčlenená do niekoľkých kapitol V úvodnej časti autor diskutuje

- o význame vitamínu D v organizme
- o suplementačnej stratégii
- o súvislostiach medzi hladinami vitamínu D a rôznymi chorobnými stavmi
- vychádza z publikácií za ostatných päť rokov.

Autor vo svojej praktickej časti habilitačnej práce dané úlohy splnil.

Na väčšom súbore zisťoval hladiny vitamínu D v populácii Plzně

- Obecná populácia mesta Plzně 1971 osob
- Zamestnanci Fakultnej nemocnice Plzeň 456 osob
- Zamestnanci Městského ústavu sociálních služeb 180 osob
- Klienti Městského ústavu sociálních služeb 248 osob

Zistil skutočný stav vitamínu D v populácii mesta Plzeň a vlastne poukázal na to akým závažným problémom sa javí nedostatok vitamínu D v danej populácii a poukázal na to ako je dôležitá pravidelná saturácia vitamínom D.

Nedostatok vitamínu D je bežným problémom mnohých populácií na celom svete a téma v práci MUDr.Šimánka o vitamíne D je dobre a presne spracovaná. Problematika je však široká a sám Holick napísal „The More We Know, the Less We Know“ a skutočne celú problematiku nie je možné vyriešiť v jednej habilitačnej práci. Je dobré, že autor sa sústredil na jednotlivé oblasti v ktorých má dlhoročné

skúsenosti, lebo je rastúce povedomie v lekárskej komunite o tom, že nedostatok vitamínu D postihuje veľkú časť populácie a že následné zdravotné účinky ďaleko presahujú úbytok kostnej hmoty a osteoporózu, vyvolalo exponenciálny nárast testovania vitamínu D a aj preto hodnotím prácu ako dôležitú a veľmi potrebnú aj pre klinickú prax.

MUDR.Šimánek,PhD

**sa pokúsil zistiť v akom rozsahu a akým spôsobom je prevádzaná
suplementácia vitamínom D**

Na suplementáciu sa používajú dve hlavné formy vitamínu D3 (cholecalciferol) a D2 (ergocalciferol), ktoré sa líšia štruktúrou svojich bočných reťazcov. Účinnosť vitamínu D2 je však len 40 až 60% z účinnosti vitamínu D3. V laboratóriu sa stanovuje vitamín D pomocou síce presnou a spoľahlivou ELISA metódou, elektrochemiluminescenciou, alebo chemiluminescenciou ale konečný výsledok je Vitamín D suma $\frac{D2+D3+24,25(OH)D}{}$. V súčasnosti je separátne meranie jednotlivých metabolitov vitamínu D možné len metódami LC-MS/MS. Vysoká špecifickosť technológie LC-MS/MS minimalizuje problém krížovej reaktivity s inými metabolitmi. Na analýzu sú však potrebné vysoko citlivé hmotnostné spektrometre, pretože napríklad koncentrácie 24,25-(OH)₂D3 (fyziologicky neúčinného) v ľudskom sére sú vo veľmi nízkom nanomolárnom rozsahu. Diagnostická menejcennosť jedného metabolitu vitamínu D v porovnaní s iným môže byť spôsobená výlučne analytickými a nie biologickými dôvodmi. Najnovšie štúdie systematicky skúmajú nové markery stavu vitamínu D vrátane pomeru metabolitov vitamínu D (VMR) (pomer medzi 25-OHD a 24,25-dihydroxy vitamínu D), biologicky dostupného 25-OHD [25-OHD neviazaného na väzbu vitamínu D proteínu (DBP)] a voľný 25-OHD [cirkulujúci 25-OHD neviažuci sa ani na DBP, ani na albumín (ALB)]. Tieto parametre môžu potenciálne zmeniť spôsob, akým sa bude v budúcnosti posudzovať stav vitamínu D v organizme.

**V praktickej časti
autor rieši tri hlavné problematiky**

- výskyt sníženej hladiny vitamínu D v populácii

Nové parametre môžu potenciálne zmeniť spôsob, akým sa bude hodnotiť stav vitamínu D v budúcnosti. Hoci tieto nové biomarkery rozšírili naše znalosti metabolizmu vitamínu D, celý rad nevyriešených otázok týkajúcich sa ich merania a interpretácie výsledkov zatiaľ bráni ich použitiu v každodennej praxi.

Okrem toho, genetické štúdie odhalili niekoľko polymorfizmov kľúčových proteínov metabolizmu vitamínu D, ktoré majú vplyv na cirkulujúce

koncentrácie vitamínu D metabolitov. Tieto parametre môžu skutočne potenciálne zmeniť spôsob, akým budeme hodnotiť stav vitamínu D v organizme v budúcnosti. Hoci tieto nové biomarkery rozšírili naše znalosti metabolizmu vitamínu D, celý rad nevyriešených otázok týkajúcich sa ich merania a interpretácii nameraných výsledkov ešte zostáva nevyriešených.

- možnosť ovplyvnenia suplementáciou

Vitamín D3 aj D2 možno získať v malých množstvách aj zo stravy, alebo vo významnejších množstvách z obohatených potravín alebo vitamínových doplnkov.

Dá sa očakávať, že niektoré z týchto problémov stanovenia a interpretácie bude prekonané v blízkej budúcnosti, aby mohli byť považované za rutinné používanie (aspoň v špecializovaných centrách). Okrem toho, genetické štúdie odhalili niekoľko polymorfizmov v kľúčových proteínoch metabolizmu vitamínu D, ktoré majú vplyv na cirkulujúce koncentrácie metabolitov vitamínu D. Postihnuté proteíny zahŕňajú DBP, 7-dehydrocholesterol syntázu a vitamín D receptor (VDR). Tieto parametre môžu potenciálne zmeniť spôsob, akým sa bude hodnotiť stav vitamínu D v blízkej budúcnosti. Prístup k suplementácii vitamínom D je typický pre personalizovanú medicínu a okrem veku, genotypu, životného štýlu, dietnych návykov treba brať však do úvahy aj prípadné užívanie nutričných doplnkov (môžu interferovať napríklad aj pri meraní ELISA metódou), prípadne užívanie dostupných liekov bez predpisu. Autor upozorňuje na chýbajúci doporučený postup ako je tomu v niektorých krajinách “Guidelines for Preventing and Treating Vitamin D Deficiency”.

- Autor zistil hladiny vitamínu D aj u širšieho spektra onkologických pacientov

v dobe stanovenia diagnózy a zhodnotil dôsledok deficitu vitamínu D. Autorove zistenia ukazujú na nutnosť suplementácie aj u pacientov s onkologickou diagnózou. Zaujímavé je zistenie, že u pacientov s rakovinou prostaty boli namerané vyššie hladiny vitamínu D oproti iným onkologickým ochoreniam (73,1 nmol/l) a to

môže svedčiť o tom, že urológovia doporučujú pacientom s CaP užívať

vitamín D 2000 IU a dokonca až 4000 IU denne.

- prezentovaná je aj kazuistika, ktorá demonštruje dôležitý vzťah medzi akútnym infekčným ochorením a jeho vplyv na hladiny vitamínu D v sére.

Výsledky jednotlivých štúdií sú prezentované v prehľadných tabuľkách a grafoch a sú konfrontované s výsledkami najnovších zahraničných štúdií.

Celkové hodnotenie habilitačnej práce MUDr.Václava Šimánka,PhD

Práca je kvalitne a profesijne spracovaná a je doložená prácou publikovanou vo vysoko impaktovanom zahraničnom karentovanom časopise (in vivo 38:XXX-XXX (2024)). Habilitačná práca je rozdelená do niekoľkých kapitol od prehľadu teoretických vedomostí, príprava na vlastné meranie a veľmi dôležité je však poukázanie na význam, dôležitosť a potrebu zisťovania hladín vitamínu D a možnosti jeho využitia v klinickej praxi. Na práci si veľmi cením úzku a dôležitú spoluprácu s klinickou biochémiou a ďalšími klinickými pracoviskami a s jeho prístupom k riešeniu danej problematiky u dospelaj populácie v Českej republike . K tomuto riešeniu veľmi zodpovedným spôsobom pristupuje za pomoci kolektívu spolupracovníkov. Spracovaním teoretických poznatkov ako aj na základe vlastných výsledkov autor dokázal schopnosť odovzdať poznané zistenia ďalším poslucháčom, čitateľom, prípadne študentom. Táto schopnosť podporuje moje stanovisko k udeleniu pedagogicko-akademického titulu docent. Predkladaná práca objektívne hodnotí súčasný stav v danej problematike a zaoberá sa súčasným stavom problematiky vitamínu D a veľmi dôležité sú aj doporučená pre klinickú prax a pokračovanie vo výskume o vitamíne D v budúcnosti. Práca je dostatočne podporená novými literárnymi údajmi z danej problematiky. V závere práce sú stručne zhrnuté poznatky z rozsiahleho epidemiologického šetrenia. Úplný záver odporučenie pre prax a odporučenie pokračovať v započatom projekte.

Niektoré menšie výhrady k práci

- V práci sa meria vitamín D síce citlivou chemiluminescenčnou metódou, ale je to

$$\text{suma vitamínov D /D2+D3 + 24,25 (OH)}_2\text{D3/}$$

Aj keď sa použije vysoko citlivá metóda na nepresné výsledky analýzy vplývajú aj niektoré faktory na ktoré sa nesmie pri hodnotení zabudnúť. **Zníženú produkciu vitamínu D môže spôsobiť** (fenobarbital, fenytoín, glukokortikoidy, cholesterylamín, izoniazid, Izotretinoín, karbamazepín, ketokonazol, kolestipol, primidón, rifampicín.), ďalej niektoré ochorenia (celiakia, cholestatická pečeň, osteomalácia, pseudohypoparatyreoidizmom, rachitída, nefrotický syndróm a iné). **Zvýšenú produkciu vitamínu D spôsobujú** (estrogény, oktreotid, prednizón, hyperparatyreóza, laktácia, nadmerný príjem vitamínu D, sarkoidóza, tehotenstvo, po intenzívnom cvičení a iné.) Toto treba pri konečnom hodnotení brať do úvahy.

- Autor zistil dôležitosť pravidelného užívania pri saturácii vitamínom D., ale pre klinickú prax je dôležité doporučiť aké množstvo vitamínu D by mali pacienti pravidelne denne užívať (koľko v zime a koľko stačí v lete), aby bola dosiahnutá optimálna hladina vitamínu D v krvi (75 nmol/l - 150 nmol/l)

Záver

* Habilitačná práca prináša nové dôležité zistenia o deficite vitamínu D v časti populácie Plzně a doporučuje riešenie formou saturácie vitamínom D.

* Uplatnenie výsledkov práce habilitanta dáva veľké možnosti pre využitie výsledkov aj vo farmakologickom výskume a teda možné a dôležité uplatnenie týchto výsledkov v cielenej a dostatočnej farmakoterapii jednotlivými formami vitamínu D.

* Veľmi dôležité je zistenie ako je dôležité verejnosť dostatočne informovať a robiť preventívne opatrenia ako zlepšiť nepriaznivý stav s nízkymi hladinami vitamínu D v populácii.

* Habilitant preukázal schopnosť písomnou formou odovzdávať poznané čitateľom, čo je významná vlastnosť budúceho docenta.

Predložená habilitačná práca spĺňa všetky náležitosti požadované pre práce tohto druhu v zmysle noriem, a preto odporúčam habilitačnú prácu MUDr.Šimánka prijať ako podklad na habilitačné konanie. Po úspešnom obhájení habilitačnej práce a splnení všetkých požadovaných kritérií

o d p o r ú č a m

habilitačnej komisii navrhnúť Vedeckej rade Lekárskej fakulty Karlovej Univerzity

udeliť MUDr.Václavovi Šimánkovi, PhD

titul docent v odbore

“Hygienu, preventívni lékařství a epidemiologie”

Posudok vypracoval:

doc.ing.Pavel Blažíček PhD.

Katedra chémie klinickej biochémie a laboratórnej me

Lekárskej fakulty Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

Prednosta katedry prof.MUDr. RNDr. Gustáv Kováč, CSc, MBA

V Bratislave 03.júna 2024