

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Cink szupplementáció és a hüvelyi állapot

összefüggéseinek vizsgálata

Dr. Damjanovich Péter

Témavezető: Dr. Kozma Bence



Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola
Debrecen, 2022

Cink szupplementáció és a hüvelyi állapot összefüggéseinek vizsgálata

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az Egészségtudományok tudományágban

Írta: Dr. Damjanovich Péter okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Táplálkozás- és Élelmiszertudományok Doktori Iskolája
(Táplálkozástudományi doktori programja) keretében

Témavezető: Dr. Kozma Bence

Az értekezés bírálói:

Dr. Romics Miklós, PhD
Dr. Varga Balázs, PhD

A doktori védési bizottság:

elnök:

Prof. Dr. Vecsernyés Miklós PhD

opponensek:

Dr. Romics Miklós, PhD

Dr. Varga Balázs, PhD

tagok:

Dr. Szatmári Szilárd, PhD

Dr. Molnár Zsuzsanna, PhD

Az értekezés védésének (online formában) időpontja: 2022. május 27., 11:00.

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a damjanovich.peter@med.unideb.hu e-mail címre a vitát megelőző munkanap (2022. május 26.) 12.00. óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

1. A Doktori értekezés előzményei hipotézisei és célkitűzései

Magyarországon, hasonlóan más európai országokhoz a várható átlagos élettartam az utóbbi 30 évben folyamatosan növekedett. Míg az 1990-es évek elején a női populációban a várható átlagos életkor 73 év volt, addig 2019-re a KSH adatai szerint ez 79 évre tolódott ki.

Ezzel párhuzamosan fokozatosan javult az életminőség is, melynek következtében megjelent a populációban a magas egészséggel összefüggő életminőség iránti igény. A páciensek egyre gyakrabban fordulnak orvoshoz olyan, a várható élettartamot nem, de az életminőséget jelentősen befolyásoló kórképek miatt is, mint a menopauzális genitourinális szindróma (GSM). Annak fényében még mindig kevésnek mondható azon betegeknek a száma, akik ténylegesen orvoshoz fordulnak, hogy a hüvelyi atrófiával járó GSM a peri- ill. a postmenopausában levő nők mindegy 30-50% érinti. A kellemetlen tünetek kivizsgálásban a mai napig a kérdőívek, a betegek szubjektív panaszai és a hüvelyfali cytológia állnak rendelkezésre. Terápiájában a leggyakrabban alkalmazott kezelések a lokálisan alkalmazható nedvesítő és hidratáló készítmények, valamint – a szintén elsősorban topikális módon bevitt - hormon pótlás. Utóbbi számos esetben akadályba ütközik, hiszen egyrészt a páciensek körében nem ritka a hormon tartalmú kezelésekkel szemben tanúsított általános ellenérzés, másrészt egyes hormon dependens kórképekben kontraindikált az ösztrogén pótlás. Mindezek mellett a közelmúltban a lézerkezelés innovatív kezelési lehetőségévé vált a GSM számára. 2014-ben a Food and Drug Administration (FDA) jóváhagyta a frakcionált mikroablatív szén-dioxid lézer terápia alkalmazását urogenitális atrófiában.

A cink az egyik legfontosabb esszenciális ásványi anyag az emberi szervezetben. Kulcsszerepet játszik számos élettani funkcióban, beleértve 100 különböző enzim működésének támogatását. Ezen kívül a fehérjékben katalitikus, szerkezeti és jelátviteli szerepet tölt be. Az emberi hüvelyben a cink jótékony hatással van az extracelluláris mátrix összetevőire, és működésnek serkentésével fokozza a hüvely elasztintermelését. Állatkísérletek kimutatták, hogy ha az

egereket cinkhiányos diétán tartják, akkor a hüvelyfal atrofíává válik. Ezzel szemben, ha cink szupplementáció történik, ugyan ezen egereknél akkor a hüvelyfal extracelluláris mátrixa (ECM) regenerálódik. Emellett kimutattuk, hogy a humán hüvelyi simaizomsejtekben a cink jótékony hatással van az izom által termelt extracelluláris komponensekre, azáltal, hogy a cink szöveti szinten fokozza az elasztin termelődését.

Hipotézisünk szerint a CVL-ben (cervicovaginal lavage) mért cink szintek jól korrelálnak a GSM/VVA meglétével vagy hiányával és a CVL cink szint egy új lehetséges vizsgálati eljárást jelenthet a hüvelyi atrófia kimutatására. Elsődleges célkitűzésünk tehát a CVL-ben mért cink szintek és a menopauzális státusz, valamint a CVL-ben mért cink szintek és a GSM/VVA (vulvovaginalis atrophia) megléte közötti lehetséges összefüggés feltárása volt. A cink pótlása orális és vaginális utakon is lehetséges, ugyanakkor az oráliasan szedett cink hüvelyben történő megjelenéséről igen szegényes irodalmi adatokkal rendelkezünk. Második hipotézisünk szerint az oráliasan szedett cink mind pre- mind postmenopauzában emelheti a CVL cink szintjét. Ennek megfelelően vizsgálataink második szakaszában orális cink pótlás előtt és azt követően vizsgálatuk a CVL cink szintjét.

2. Beteganyagok és módszerek

2.1. Betegcsoport- CVL vizsgálata a hüvelyi atrófiában

Prospektív kohorsz vizsgálatot végeztünk 2017. márciusa és 2018. szeptembere között a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán. A beválogatási kritériumok között szerepelt a hüvelyszárazság jelenléte vagy hiánya, valamint a hajlandóság a kutatásban való részvételre. Kizárási kritérium volt a terhesség, a hormonterápia (helyi vagy szisztémás) az elmúlt 6 hónapban, a recept nélküli hüvelykészítmények nemrégiben történt használata, hüvelyi fertőzés jelenléte, a vizelet vagy széklet-inkontinencia, a >2 stádiumú kismedencei prolapsus jelenléte (POP-Q szerint, lásd később) vagy bármilyen betegség, amely zavarhatja a vizsgálati protokollt. Vizsgálatainkat az Egészségügyi Tudományos és Kutatásetikai Bizottság jóváhagyásával végeztük (ETT TUKEB 18504-1/2017/EKU). Minden beválogatásra került beteg részletes tájékoztatást követően még a kezelés megkezdése előtt beleegyező nyilatkozatot írt alá. A páciensek körében visszavont beleegyezés vagy más körülmény miatt megszakított vizsgálat nem fordult elő.

A nagyobb fokú kismedencei süllyedést kizáró POP-Q (Pelvic Organ Prolapse Quantification) vizsgálatot Nemzetközi Kontinencia Társaság ajánlása alapján végeztük. A POP-Q státuszt a genitáliák és a hüvely fizikális vizsgálata alapján lehet felállítani. Hat pont leírása szükséges a hüvelyben, kettő pont a mellső hüvelyfalról, kettő pont az apikális régióról és kettő pont a hátsó hüvelyfalról. A mérések során a hymenális gyűrűt tekintjük a viszonyítási síknak. Amennyiben a meghatározott pont proximálisan helyezkedik el, azaz a hymenális gyűrű felett, a kapott számértéket negatív előjellel jelöljük, míg, ha distálisan helyezkedik el, vagyis a hymenális gyűrű alatt pozitív előjelet használunk.

Az előzményi adatok áttekintése után kizárásra kerültek azon nők is, akiknek előzményében volt cink- vagy rézhiány. Változó koron átesettnek tekintettük azokat a pácienseket, akiknek 12 egymást követő hónapban nem volt menstruációjuk, minden egyéb nyilvánvaló ok nélkül, valamint a laborjaikban megemelkedett follikulus-stimuláló hormon szint (legalább 30mIU / ml vagy magasabb) volt látható.

A tanulmányba bevont nők részletes kismencedei vizsgálaton estek át, hüvelyfali citológiát végeztünk, a CVL-t pedig standardizált módon gyűjtöttük össze (lásd később). Meghatározásra került a VMI (vaginal maturation index) és a VAS (visual analog scale) érték. A demográfiai és a releváns klinikai információkat, prospektív módon rögzítettük és egy erre dedikált, külön adatbázisban tároltuk. Minden páciens írásbeli hozzájárulást írt alá, mielőtt részt vett a kutatásunkban. A laboratóriumi méréseket (CVL cink szint és citológia) független laboratóriumban végezték, a klinikai adatok ismerete nélkül.

2.1.2. CVL gyűjtése

A hüvelyi vizsgálatokat minden esetben műanyag spekulummal végeztük, amely nem tartalmaz cinket vagy rézet, ezzel is minimalizálva a külső ágenssek behatását a mintára. A cervicovaginalis lavage-t úgy gyűjtöttük össze, hogy a méhnyakat és a hüvely falakat 10 ml normál steril sóoldattal mostuk, majd az összegyűjtött folyadékot műanyag fecskendővel összegyűjtöttük. A mosófolyadékot 60 másodpercig, műanyag fecskendővel fecskendeztük a hüvely falára és a méhnyakra, majd három egymást követő aspirációt végeztünk. A mosófolyadék teljes mennyiségét fecskendővel történő szívással nyertük ki a hátsó fornixból. A CVL mintákat összegyűjtöttük és az analízisig -80 ° C-on tároltuk.

2.1.3. Vizuális Analóg Skála (VAS)

A résztvevők 10 fokozatú vizuális analóg skálán (VAS) számoltak be hüvelyi tüneteik intenzitásáról. Értékelniük kellett a GSM tüneteit: a hüvelyszárazságot, a fájdalmat, égő-viszkető érzést, a dyspareuniát és dysuriát. A skála bal végpontja a tünetek teljes hiányát jelezte (0), míg a jobb a lehető legerősebb, legrosszabb tüneteket. A VAS-pontszámot az értékek összeadásával határoztuk meg.

2.1.4. Vaginal Health Index (VHI)

A hüvelyi egészség index (Vaginal Health Index - VHI) az alábbi tulajdonságokra adott pontszámok összességéből adódik össze: elaszticitás, folyadék szekréció, pH-, az epiteliális nyálkahártya épsége, valamint nedvesség. Az egyes alkotóelemeket 1 (legrosszabb) és 5 (legjobb) skálán pontozuk. Minél alacsonyabb volt a pontszám, annál súlyosabb atrófiát jelzett.

2.1.5. Hüvelyi cytológia

A hüvelyi kenetmintákat az oldalsó hüvelyfal középső harmadának egyetlen kaparásával, spatula segítségével gyűjtöttük össze. Mintánként 200 sejt került elemzésre, melyeket egy független citopatológus vizsgált. Meghatároztuk a parabazális (P), az intermedier (I) és a szuperficiális (S) sejtek számát, majd ezeket az értékeket szoroztuk meg 0, 0,5 és 1,0-gyel. Meseils szerint meghatároztuk a vaginal maturation value-t (VMV).

A kenetben található P-sejtek és az I-sejtek megnövekedett százalékos aránya, arra utalt, hogy csökkent az ösztrogénszint. 0 és 49 közötti VMV-értékek alacsony ösztrogénhatást jeleztek,

összhangban a hüvelyi atrófiával, tehát amennyiben a VMV kevesebb, mint 50 volt atrófiásnak tekintettük a mintát.

2.1.6. Minták előkezelése

A hüvelyi folyadékminták nagy mennyiségű szerves anyagot tartalmaztak, melyek befolyásolták volna az elemzést, így a minták előkezelésére volt szükség. Az 5 ml folyadékmintákat veszteség nélkül üvegpocharakba vittük át a tároló tesztcsöveknek 2 ml koncentrált salétromsavval történő kimosásával. A mintákat szárazra melegítettük egy elektromos főzőlapon, és újabb 4 ml 65% (m/m) salétromsavat adtunk hozzá a folyadékminták nedves emésztéséhez. Ezután szárazra hevítéssel melegítettük a mintákat majd, veszteség nélkül műanyag kémcsövekbe helyeztük a mintát, ahol 10 ml-re hígítottuk ultra tiszta vízben készített 0,1 M salétromsavval.

A savak tisztaságát olyan vak minták emésztésével ellenőriztük, amelyek csak a vegyi anyagokat tartalmazták, de nem tartalmaztak mintákat. Az összes mintát polipropilén csövekben tartottuk, hígítottuk és 48 °C-on hűtőszekrényben tároltuk a mérésig.

2.1.7. Minta analízis

A CVL elemi vizsgálatát induktív kapcsolású plazma optikai emissziós spektrometriával végeztük (ICP-OES 5100, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Az atomspektroszkópiás módszerek 70-80 elem minőségi és nagy analitikai érzékenységű mennyiségi meghatározására alkalmas műszeres analitikai eljárások. Általánosságban elmondható, hogy a mintában jelenlevő vizsgálni kívánt elemet szabad atomokká alakítjuk. A szabad atomok létrehozhatók különböző hőmérsékletű lángokkal, elektromos ívvel, szikrával,

egyenáramú, induktív vagy kapacitív csatolású plazmával, illetve nagy hőmérsékletű grafitcsőben. Aszerint, hogy a szabad atomok minőségéről és mennyiségéről hogyan szerzünk adatokat, beszélünk atomemissziós (AES), atomabszorpció (AAS) és atomfluoreszcens (AFS) módszerekről.

Az atomemissziós spektrometriában termikus vagy elektromos energia segítségével a vizsgált elem gerjesztett atomjait (gerjesztett ionjait) állítjuk elő. E gerjesztett atomok által kisugárzott fény színekéből a jellemző hullámhosszak alapján állapítjuk meg az adott elem minőségét (minőségi elemzés). Az elem adott hullámhosszúságú színekvonalának relatív intenzitásából (I_{rel}) pedig annak (c) koncentrációját határozzuk meg (mennyiségi elemzés). A mért jel és a koncentráció közötti általános összefüggést a Scheibe-Lomakin egyenlet írja le.

2.1.7.1. Induktív csatolású atom emissziós spektrometria

Az induktív csatolású plazma atom emissziós spektrometria (ICP-AES) az egyik legmodernebb műszeres analitikai módszerek közé tartozik. Az ICP gyorsasága és csekély zavaró hatása miatt, ideális analitikai rendszerek, kémiai elemek, vizes és nem vizes oldatokból történő meghatározására. Az ICP-AES módszer jól automatizálható, az automata minta váltós, számítógép vezérelt elemző rendszerek percenként képesek egy-egy oldat mintából (kb. 2 cm³) 20-50 elemre minőségi és mennyiségi elemzést elvégezni. Kimutatási határa 10 – 10 % (μg/cm – μg/dm). Az egyetlen hitelesítő görbével átfogható dinamikus koncentráció tartomány 5-6 nagyságrend.

Az ICP-AES készülék nagyfrekvenciás (20-50 MHz) generátorból, nagy- feszültségű (5-15 kV) egyenirányító egységből, víz- vagy léghűtésű triódából és egy rezgőkörből áll. A 2-3 menetből álló indukciós tekercs ezüst bevonattal ellátott rézcsőből készült. A kvarc csövekből felépülő égő, a tekercs tengelyében helyezkedik el, melynek külső átmérője 2–3 cm. A generátor

bemenő teljesítménye 2 kW, a fényforrásban felszabaduló (kimenő) teljesítmény pedig átlagosan 0,7 kW.

A nagyfrekvenciás erőter létesítése, a kisülés után úgy indul, hogy a kvarccső végére kisteljesítményű szikrakisülést irányítanak, úgynevezett Tesla-szikrát, mely az argont ionizálja. Az ionok és elektronok oszcillálása és ütközése következtében 6-8000 K hőmérsékletet alakul ki. A plazma belső része valamivel kisebb hőmérsékletű, melybe a mintaoldat porlasztásával előállított aeroszolt juttatjuk. A plazmaköpenyt használjuk fel az emissziós észleléshez, melynek 5-7000 K hőmérséklete kedvező a fématomok és néhány nemfém (S, P, As, Se, C) atomjainak, illetve egyszeres töltésű fémionok gerjesztéséhez.

A belső csövön felfelé áramló argongáz 1-2 mm átmérőjű alagutat „fűr” magának a plazmán át anélkül, hogy annak stabilitását megbontaná, ezáltal a gázáram aeroszol alakjában a plazmába juttatja a mintát. Az aeroszol viszonylag hosszú (kb. 1 ms) ideig tartózkodik az 5000 K hőmérsékletű alagútban, így igen nagy az atomizációs, illetve az ionizációs fok.

Tanulmányunk során ICP-spektrométerrel a plazma fényét közvetlenül egy vákuum polikromátorba képztük le, argon gáz öblítésű fényúton keresztül, hogy a rövid hullámhosszúságú (165-200 nm) színekpvonalak levegőben történő elnyelődését megakadályozzuk. A plazma körül elhelyezkedő száloptikák vezetik a fényt további három egymástól független polikromátorba és egy monokromátorba. A monokromátor lehetővé teszi tetszőlegesen kiválasztott elemek színekpvonalainak mérését, szélesebb (1-10 nm) spektrum-tartományok vizsgálatát. A négy polikromátorban 25 elem csatornája foglal helyet, melyek szimultán mérhetőek.

A fényjelet fotoelektron sokszorozó alakítja elektromos jellé, az adatok gyűjtését és feldolgozását számítógép vezérli.

ICP-vel kb. 70 elem határozható meg egyetlen mintából, főkomponensek és nyomszennyezők egyszerre is vizsgálhatók. A módszer pontossága igen jó, önabszorpció és más hasonló hibaforrás nem lép fel, így az analitikai görbe 4-6 koncentráció-nagyságrenden belül egyenes.

2.1.8. Adatok statisztikai elemzése

Vizsgálataink során minden esetben a folyamatos változók normalitását grafikus ábrák segítségével vizsgáltuk. A folyamatos változók esetén az átlag és standard deviáció (SD) került meghatározásra. Elvégeztük a Student t-tesztet (paraméteres adatokhoz) és párosított t-tesztet a cink-kiegészítés összehasonlítása előtt és után. A szérum nyomelem-koncentrációi és a CVL közötti összefüggéseket a Pearson-korrelációs együttható alkalmazásával értékeltük. A különbségeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a P értéke 0,05 alatt volt. Az összes statisztikai elemzést az SAS 9.4 statisztikai szoftver (SAS Institute Inc., NC, USA) segítségével végeztük.

2.2.1. Betegcsoport- Orális cink szupplementáció

A Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Urogynekológiai szakrendelésén prospektív intervenciós kohorsz tanulmányt végzetünk 2017 márciusa és 2018 szeptembere között. Vizsgálatainkat az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának jóváhagyásával végeztük (ETT TUKEB 18504-1/2017/EKU). Minden beválogatásra került beteg részletes tájékoztatást követően még a kezelés megkezdése előtt beleegyező nyilatkozatot írt alá. A páciensek körében visszavont beleegyezés vagy kedvezőtlen hatás miatt megszakított kezelés nem fordult elő. A tanulmányba 18 évesnél idősebb nőket válogattunk be. A kizárási kritériumok voltak: a terhesség, a hormonterápia (helyi vagy

szisztémás), a recept nélküli hüvelyi termékek nemrégiben történt használata, hüvelyi fertőzés, szexuális aktivitás az elmúlt 48 órában, citológiai atypia, dysmenorrhea, medencei szervek prolapsusa (POP-Q > 2 std.), súlyos vizelet- vagy széklet-inkontinencia, vagy bármilyen betegség, amely zavarja a vizsgálati protokollt. Azok a páciensek is kizárásra kerültek, akiknek az anamnézisében cink- vagy rézhiány volt. A menopauza csoportba az került, akinek legalább 12 egymást követő hónapban nem volt menstruációja minden egyéb nyilvánvaló ok nélkül, vagy megemelkedett 30 mIU / ml sérum feletti folliculus stimuláló hormon (FSH) szintet mértünk, vagy korábban mindkét petefészek műtéti eltávolítását történt. A hüvelyi citológiát és a CVL-t standardizált módon gyűjtöttük össze, részletes nőgyógyászati vizsgálat után. Szérummintákat vettünk a cink- és rézszint mérésére. A résztvevőket arra kértük, hogy napi 30 mg cink tablettát szedjenek, cink-acetát és cink-glükonát formájában két hétig [20 mg cink-acetát (BioCo Hungary Kft, Budapest, Magyarország) és 10 mg cink-glükonát (Jamieson Laboratories), Ontario, Kanada)]. A két hét terápiás időszak befejezése után a pácienseket arra kértük, hogy ismét jelentkezzenek nőgyógyászati vizsgálat, hüvelyfali citológia és CVL elvégzése céljából. A demográfiai és releváns klinikai információkat prospektív módon rögzítettük és egy erre dedikált, külön adatbázisban tároltuk.

2.2.2. Minták előkészítése-Analízise

Csakúgy, mint a CVL cink szintjének mérése során a minták előkészítésére volt szükség, melyet a korábban részletezett módon végeztünk el, majd a minták elemi elemzését induktív kapcsolású plazma optikai emissziós spektrometriával végeztük el, mely után az adatok az adatok statisztikai elemzése történt.

3. Eredmények

3.1. CVL vizsgálata a hüvelyi atrófiában

120 nő került beválogatásra, a kiválasztott résztvevők átlagos életkora 54 ± 13 év volt. A páciensek közül 68% (82 fő) volt menopauzában, az előzményi terhességek, illetve szülések mediánja pedig 2 volt. A VAS totál pontszáma 14 ± 14 volt a CVL gyűjtése előtt. A résztvevő nők közül 62 % (74 fő) számolt be hüvelyszárazságról, az átlagos hüvelyi szárazsági érték pedig 4 ± 4 volt. 37 (31%) nőnél volt kimutatható a hüvelyi atrófia jelenléte, ezeknek a pácienseknek a VMI kevesebb mint, 50 volt. Az átlagos VHI 15 ± 6 , míg az átlagos CVL cinkszint $0,10 \text{ ml / L} \pm 0,10$ volt. A statisztikai elemzés során szignifikáns különbségeket találtunk a CVL cink szintje a korcsoportok, a menopauzális státusz, a hüvelyszárazság jelenléte és a hüvelyi atrófia (VMV kevesebb mint 50) között. A korrelációs elemzésben mérsékelten pozitív korrelációt találtunk a VMV és a CVL cink szintjei között is ($r=0,495$, $P\text{-érték}<0,01$). A többváltozós regressziós modellben azonban, az összes szignifikáns tényezőt is figyelembe véve, csak a hüvelyi atrófia volt szignifikáns ($P \text{ érték}=0,02$). Mindezek alapján elmondható, hogy a többváltozós regressziós modellünk szignifikáns összefüggést tárt fel a hüvelyi atrófia (VMV <50) és a CVL cinkszint között.

3.2. Orális cink szupplementáció

Prospektív intervenciós kohorsz vizsgálatunkba tizenkét premenopauzás és tíz posztmenopauzális nő került bevonásra, jelentős nőgyógyászati patológia nélkül. A változó kor előtt álló csoportban az átlagos életkor 35 ± 7 év volt, míg a változó koron átesett csoportban 60 ± 3 év volt. A klinikai és demográfiai változók a 3. táblázatban foglaltuk össze. A

posztmenopauzális csoportban a nők szignifikánsan idősebbek voltak, mint a premenopauzális csoportba bevont résztvevők. (átlag $\pm$ SD, évek, 60 ± 3 vs. 35 ± 7 , $P < 0,01$). Mind a hüvelyi egészségi mutató (VHI), mind a hüvelyi érési értékek (VMV) szignifikánsan magasabbak voltak a premenopauzális nőknél, mint a postmenopauzában lévőknél a cink pótlás előtt és után (3. táblázat). A premenopauzális csoportban a VHI a kezelés előtt 23 ± 2 volt, míg a kezelés után szintén 23 ± 2 . A VMV ugyanebben a csoportban 58 ± 6 volt a kezelés előtt, míg a kezelés után 61 ± 12 . A postmenopauzális csoportban a VHI értéke 11 ± 5 volt, míg a kezelés után 13 ± 4 . A VMV 26 ± 24 volt a változó koron átesett páciensek körében a kezelés előtt, míg a kezelést követően 27 ± 20 . Az adatokból egyértelműen látható, hogy szignifikáns különbség nincs a VHI vagy a VMV értékei között egyik csoportban sem, a cink szupplementáció előtt és után.

A szérum cink-szint szignifikánsan emelkedett volt, mind a premenopauzában, mind a posztmenopauzális csoportban (átlag $\pm$ SD, mg / L, $0,88 \pm 0,17$ vs. $1,06 \pm 0,23$, $P < 0,01$ és $0,83 \pm 0,24$ vs. $0,96 \pm 0,33$, $P < 0,01$) kéthetes napi orális cinkpótlás után. A CVL cink-szintje szignifikánsan szintén magasabb volt a premenopauzális csoportban, mint a posztmenopauzális csoportban a tanulmány előtt és után (átlag $\pm$ SD, mg / L, $0,13 \pm 0,05$ vs. $0,06 \pm 0,04$, $P < 0,01$ és $0,10 \pm 0,03$ vs. $0,05 \pm 0,01$, $P < 0,01$), de a cinkpótlás egyik csoportban sem volt szignifikáns hatással a CVL cink szintre. Összeségében tehát elmondható, hogy a két hétig orális pótoltnapi 30 mg cink nem növelte jelentősen a CVL cinkszintjét annak ellenére, hogy a szérum cinkszintje jelentősen megemelkedett. A CVL cinkszintje szignifikánsan magasabb volt a premenopauzás nőknél, mint a posztmenopauzában, de a rézsint hasonló volt. A CVL cinkszintje 15-20-szor magasabb volt, mint a CVL réz szintje.

4. Megbeszélés

A menopausalis genitourinális szindróma (GSM, Genitourinary Syndrome of Menopause) vagy korábbi nevén vulvovaginális atrófia (VVA) a középkorú nők mintegy felét érintheti. A GSM/VVA-át először *Portman és Gass* definiálta az ösztrogén és más szteroid hormonok csökkenő szintjei miatt kialakuló szindrómaként. 2014-ben az Észak-Amerikai Menopauza Társaság (NAMS, North American Menopause Society) a korábban elsősorban vulvovaginális atrófiaként ismert tünetegyüttes nomenklatúráját megváltoztatta és javaslatuk alapján a menopausalis genitourinális szindróma (GSM, Genitourinary Syndrome of Menopause) megnevezés került bevezetésre.

A VVA a GSM része, amelynek során a hüvelyfal atrófiája olyan tünetekhez vezet, amelyek jelentős hatással lehetnek az életminőségre és a szexuális egészségre. A kezeletlen tünetek, mint a hüvelyi fájdalom, szárazság és égő, viszkető érzés, a rugalmasság csökkenése az idő előrehaladtával súlyosbodnak az érintett betegcsoportban.

A GSM kialakulásáért a változó kor után jelentkező ösztrogén hiány felelős, mely a vulvában, illetve a hüvelyben morfológiai és szekréciós természetű változásokat indít meg melyek következtében csökken a vérellátás, a lubrikáció és az elaszticitás, valamint a glikogéntermelés. Menopauzának nevezzük azt az időszakot, amikor az utolsó havi vérzést követően, 12 hónapon belül nem jelentkezik újabb vérzés, egyéb patológiás eltérés pedig nem áll a háttérben. A változó kor átlagosan 47,5 év körül következik be, azonban nem ritkán tolódik ki 52-53 éves korig. A GSM/VVA tünetei a menopauzában bekövetkező morfológiai és szekréciós változások következményeként alakulnak ki, az ösztrogénszint csökkenése miatt. A csökkenő vérellátás a rugalmasság romlásához vezet, míg a glikogén-tartalom csökkenése hátrányosan befolyásolja a hüvelyfal hámját, ezáltal kedvezőtlen irányba befolyásolja a hüvely flóráját, következményesen alkalikus irányba tolja el a hüvelyi pH-t.

A GSM incidenciája a változó kor után 40-57%, a tünetek előfordulása gyakorisága azonban széles határok között mozog. A hüvelyi szárazság megléte 27- 55% között változik; az érintettek 40–77%-a számol be dyspareuniáról, 6-37%-nál pedig egyéb urológiai jellegű tünetek is előfordulnak, valamint egyéb hüvelyi panaszok (égő-viszkető érzés, hüvelyi folyás). A VVA/GSM diagnózisa az anamnézis felvételén és klinikai vizsgálatokon alapul. Számos pontrendszer áll rendelkezésre a női urogenitális egészség meghatározására (pl. VHI). A hüvelyfali biopszia a legközvetlenebb módszer a hüvelyfal változásainak vizsgálatára; ez azonban invazív, így kutatási célra etikailag is aggályos. A biopszia invazivitása miatt a hüvelyfal citológiai vizsgálatát használják az atrófia objektív vizsgálatára mind a kutatás, mind a klinikai gyakorlat során. *Meisels* vezette be a vaginal maturation value-t (VMV), a hüvelyi atrófia objektív mérésére. Az 50 alatti VMV érték alacsony ösztrogénhatást jelez, amely megfelel a hüvely atrófiájának. 65-100 közötti érték kielégítő ösztrogén hatást, míg 50-64 között pedig közepes az ösztrogén hatás jelez. Ezen módszer mellett nincs más megbízható és egyszerűen alkalmazható marker a VVA laboratóriumi diagnosztizálására.

A GSM/VVA kezelése a tünetek súlyosságától függően változik. Enyhébb tünetek esetén az életmódváltoztatás és a vény nélkül kapható készítmények (síkosítók, hidratálók) eredményesen alkalmazhatók. A nem hormonális, hosszú hatású hüvelyi hidratáló szerek rendszeres használata jelentősen javíthatja a hüvelyszárazság tüneteit, csökkentheti a hüvely pH-ját a menopauza előtti szintre, azonban nem olyan hatékonyan, mint a hormonális kezelések.

Bár számos síkosító és hidratáló szer kapható kereskedelmi forgalomban, rendkívül kevés klinikai vizsgálatot végeztek a biztonságosságuk és a hatékonyságuk bemutatására.

Egy tanulmányban, amely a hidratálók és síkosító biztonságosságát vizsgálta, a szerzők megállapították, hogy sok vízalapú gél hipermozoláris, és hámsejt károsodáshoz és toxicitáshoz vezethet. Közepesen súlyos és súlyos tünetek esetén az ösztrogén terápia (ET) a legsikeresebb

kezelési lehetőség. Mind a szisztémás, mind a vaginálisan alkalmazott formák hatékonyan javítják a GSM/VVA tüneteit. A hormonterápia azonban csak akkor alkalmazható, ha az összes kockázati tényezőt kizárták, mivel a magas ösztrogénszint miatt az endometrium karcinóma kialakulásának kockázata emelkedett.

A cink az egyik leggyakoribb nyomelem az emberi testben. Számos metalloenzim fő alkotóeleme, és kritikus szerepet játszik a sebgyógyulásban, a bioszintézisben és a különböző kötőszövetek homeosztázisában. A cinknek kiemelt élettani szerepe van a kollagén metabolizmusában, és a cink hiánya számos szerv gyógyhajlamának csökkenését eredményezi. A cink carrier-mediált hordozók révén szívódik fel a vékonybélből. Miután felszívódott, a duodenumban és a jejunumban lévő enterocitákba jut, majd a portális rendszeren keresztül a szisztémás keringésbe, ahol 70% -a kötődik az albuminhoz.

Állatkísérletek kimutatták, hogy a cink jótékonyan befolyásolja a hüvelyfal extracelluláris mátrixát (ECM). A bivalyokban a plazma cinkkoncentrációja szignifikánsan alacsonyabb azoknál az állatoknál, akiknél antepartum hüvelyi prolapsus van, a normális vemhes bivalyokhoz képest. A cinkhiányos táplálékkal táplált egerek hüvelyének szövettani és hisztokémiai képei hasonlítanak a petefészek-eltávolításon átesett állatokéhoz. Ex-vivo körülmények között *Takács és munkatársai* képesek voltak cink-szulfáttal jelentősen stimulálni a hüvelyi simaizomsejtek elasztin termelését. *Takács és munkatársai* 2019-ben megjelent tanulmányukban a cink tartalmú hüvelyi hidratáló gél hatását vizsgálták a posztmenopauzális vulvovaginális tünetekre. Vizsgálataik során bizonyították, hogy a cinktartalmú hüvelyi hidratáló gél jelentős mellékhatások nélkül javítja a menopauza utáni vulvovaginális tüneteit.

A hüvelyben végbemenő változásokat legpontosabban teljes hüvelyfal vastagságát érintő mintavétellel vagy hüvelyfali biopsziával lehet monitorozni, azonban ezek a módszerek invazívak és etikai szempontból megkérdőjelezhetők egy tanulmány során, mivel a beteg számára nemcsak kellemetlenek, hanem fájdalmasak is a vizsgálatok. A cervicovaginális

lavage-ból (CVL) nyert információkat széles körben használják a hüvelyben bekövetkező változások vizsgálatára. Sikerrel alkalmazták, számos vírusos patogén kimutatására, úgymint HIV, HSV, CMV. A CVL jelentős előnyt biztosít, hiszen nem csak a hüvely egy meghatározott területéről ad információt, mint a biopsia, hanem a lavage segítségével a teljes hüvelyfal nyálkahártyájáról kaphatunk információkat. A lavage gyűjtése biztonságos, egyszerű és nem invazív eljárás, amely a hüvelyi vizsgálat során könnyen elvégezhető. A vizsgálat során a nyálkahártya felületének valamennyi összetevőjéről információt nyerhetünk, beleértve a kismolekulákat, az extracelluláris anyagokat, peptideket, sejteket és nyomelemeket.

Hipótezisünk szerint a CVL-ben mért cink szintek jól korrelálnak a GSM/VVA meglétével vagy hiányával és a CVL cink szint egy új lehetséges vizsgálati eljárást jelenthet a hüvelyi atrófia kimutatására. Elsődleges célkitűzésünk tehát a CVL-ben mért cink szintek és a menopauzális státusz, valamint a CVL-ben mért cink szintek és a GSM/VVA megléte közötti lehetséges összefüggés feltárása volt. Prospektív kohorsz tanulmányunkba 120 páciens került bevonásra. A résztvevők 68 % volt menopausában, 62%-uk számolt be hüvely szárazságról a vizsgálatunk során. Minden résztvevőnek megállapítottuk a VHI-t (vaginal health index), mely egy olyan objektív vizsgáló módszer, mely a hüvely állapotát öt jellemző alapján méri fel. Ezek az elaszticitás, folyadék szekretáló képesség, hüvelyi pH, az epithelialis mucosa állapota, valamint a hüvelyi nedvesség. Ezek alapján a résztvevők 31 %-nál állapítottunk meg hüvelyi atófiát. Meghatároztuk a VAS-t (vizuális analóg skála), mely során a páciensek egy 10 fokozatú skálán számoltak be hüvelyi tüneteik intenzitásáról. A skála bal végpontja a tünetek teljes hiányát jelezte (0), míg a jobb a lehető legerősebb, legrosszabb tüneteket. A bevont nők részletes kismencedei vizsgálaton estek át, hüvelyi citológiát végeztünk, a CVL cink koncentrációját pedig kvantitatív módon határoztuk meg a mintákból, 5 pontos kalibrációval, induktívan kapcsolt plazma optikai emissziós spektrometriával. Vizsgálatunkhoz a steril sóoldat használtunk öblítőfolyadékként, mivel más folyadékok, például a hipotóniás víz, sejtlízishez

vezethetnek, ami megzavarhatja a hüvelyfolyadék komponenseinek pontos mérését. Adataink elemzése során szignifikáns különbségeket találtunk a CVL cink szintje a korcsoportok, a menopauzális státusz, a hüvelyszárazság jelenléte és a hüvelyi atrófia (VMV kevesebb mint 50) között. A további elemzés során korrelációs analízist végeztünk, ahol mérsékelten pozitív korrelációt találtunk a VMV és a CVL cink szintjei között, azonban a többváltozós regressziós modellben, az összes szignifikáns tényezőt is figyelembe véve, csak a hüvelyi atrófia (VMV <50) volt szignifikáns a CVL cink szinttel. Eredményeink alapján a CVL-ben lévő cink szint mennyiségének mérése segíthet a GSM/VVA diagnózisában. Vizsgálataink alapján felvetettük, hogy a CVL cink-szintje alkalmazható lehet a hüvelyfali atrófia új markereként.

A cink pótlása orális és vaginális utakon is lehetséges, ugyanakkor az oráliasan szedett cink hüvelyben történő megjelenéséről igen kevés irodalmi adattal rendelkezünk. Második hipotézisünk szerint az oráliasan szedett cink mind pre- mind postmenopauzában emelheti a CVL cink szintjét. Ennek megfelelően vizsgálataink második szakaszában orális cink pótlás előtt és azt követően vizsgálatuk a CVL cink szintjét. Korábban nem volt ismert, hogy a szérumban és a hüvely cink szintje között milyen összefüggés áll fenn, valamint az sem, hogy a szérumban cink szintjének emelkedése következményesen növeli-e a hüvely szövetének cink tartalmát. Prospektív intervenciós kohorsz vizsgálatot végeztünk, melybe 12 premenopausában lévő és 10 postmenopausában lévő nő került beválogatásra. Hüvelyfali citológiát végeztünk, illetve a CVL-t standardizált módon gyűjtöttük össze, a kismencedei vizsgálatot követően. A szérumban mintákból meghatároztuk a cink- és réz szinteket. A vizsgálatban résztvevő nőket arra kértük, hogy két hétig napi 30 mg cink tablettát vegyenek be cink-acetát és cink-glükonát formájában. A két hét befejezése után a résztvevők ismételt nőgyógyászati vizsgálaton estek át, hüvelyi citológiát vettük, CVL végeztünk és vérvétel történt. CVL cink koncentrációját kvantitatív módon meghatároztuk a mintákból, 5 pontos kalibrációval, induktívan kapcsolt plazma optikai emissziós spektrometriával. Ez a módszer reprodukálható, és standard laboratóriumi

módszereken alapul. Eredményeink alapján a cinkpótlásnak nem volt szignifikáns hatása a CVL cinkszintjére sem a pre-, sem a posztmenopauzában lévő csoportban. Ezen kívül sem a szérumban, sem a CVL réz szintjét nem befolyásolta a cinkpótlás. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a szérumban és a CVL cink- vagy rézszintje között.

Vizsgálataink második szakaszának limitáló tényezői voltak a nem közvetlen mintavétel (azaz biopszia helyett CVL-ből mért adatokkal dolgoztunk), a vizsgálatainkba bevont résztvevők alacsony száma, valamint annak a körülménynek az irodalom által sem kellően feldolgozott ismerete, hogy milyen egyéb tényezők befolyásolják a hüvelyi cink homeosztázisát. Ezek mellett a vizsgálat felépítése sem tette lehetővé annak megállapítását, hogy a cink pótlása eltérő dózisa befolyásolhatja-e a CVL cink szintjét. Ezenkívül pedig a vizsgálat rövid távú jellege miatt nem mérhető fel az orális cink hosszú távú hatása sem. A felsorolt limitációk is aláhúzzák azt, hogy további vizsgálatok elvégzése szükséges annak érdekében, hogy jobban megértsük a cink szerepét a GSM/VVA kialakulásban.

A változókorral jelentkező hüvelyi atrófia számos kellemetlen tünettől nehezíti meg a peri- és postmenopausában lévő nők életét, valamint jelentősen befolyásolja ezen páciensek életminőségét. A tünetek kivizsgálásában a mai napig a kérdőívek, a betegek szubjektív panaszai és a hüvelyfali cytológia elvégzése állnak az orvosok rendelkezésére.

Ismereteink szerint munkacsoportunk vizsgálta először az orális cinkpótlás CVL cinkszintre gyakorolt hatását és a CVL cink szintjének a szerepét a hüvelyi atrófiában.

Vizsgálataink eredményeiben szignifikáns összefüggést találtunk a hüvelyi atrófia (VMV <50) és a CVL cinkszintje között. Megállapítottuk, hogy a CVL cink szintje alkalmazható, mint a hüvelyi atrófia új markere, ezáltal a vulvovaginális atrófia diagnózisának felállítására egy noninvazív, könnyen kivitelezhető módszert sikerült alkalmaznunk.

Eredményeink alapján az látszik, hogy az orális alkalmazott 30 mg cink supplementáció nem volt hatással a GSM/VVA tüneteire, ami lehet a rövid távú cink pótlás hatása is, ezért további vizsgálatok szükségeltetnek ennek bizonyítására.

5. Az értekezés új tudományos eredményei

1. Vizsgálatunkban szignifikáns összefüggést találtunk a CVL cink szintje és a vizsgált alanyok menopauzális státusza között: premenopauzában szignifikánsan magasabb a CVL cink tartalma, mint posztmenopauzában.
2. A cinkkel ellentétben a menopauzális státusz nem befolyásolja a CVL réz tartalmát: pre- és posztmenopauzában nem tér el szignifikánsan a CVL réz tartalma.
3. A CVL cink tartalma mintegy 15-20-szorosa a réz tartalmához képest.
4. Vizsgálataink eredményeiben szignifikáns összefüggés találtunk a hüvelyi atrófia (Hüvelyi maturációs érték <50) és a CVL cinkszintje között.
5. Elsőként alkalmaztuk a CVL cink szintet, mint a hüvelyfali atrófia új markere.
6. Ismereteink szerint kutatócsoportunk vizsgálta először az orális cinkpótlás CVL cinkszintre gyakorolt hatását, mind pre-, mind posztmenopauzális csoportban.

7. A két héten keresztül orálisan adagolt napi 30 mg cink szuplementáció nem változtatja meg szignifikánsan a CVL cink tartalmát annak ellenére, hogy a szérumban a cink tartalom szignifikáns emelkedést mutat.



Nyilvántartási szám: DEENK/91/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Damjanovich Péter Gábor
Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Táplálkozástudományi Doktori Program
MTMT azonosító: 10068575

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Damjanovich, P. G.**, Sipos, A. G., Larson, K., Cunningham, T. D., Takács, P., Kozma, B.:
Cervicovaginal lavage fluid zinc level as a marker of vaginal atrophy.
Menopause. 27 (7), 776-779, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/GME.0000000000001536>
IF: 2.953
2. Takács, P., **Damjanovich, P. G.**, Sipos, A. G., Kozma, B.: The effect of oral zinc supplementation on cervicovaginal lavage fluid zinc level.
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 248, 106-109, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.03.026>
IF: 2.435

További közlemények

3. Molnár, S., Maka, E., **Damjanovich, P. G.**, Török, P., Lampé, R., Krasznai, Z. T.: A hámeredetű petefészek-daganatok sebészeti ellátása és annak hatása a betegségmentes túlélésre a Debreceni Egyetem adatai alapján.
Nőgyógy. Onkol. 25, 7-12, 2020.
4. Póka, R., Barna, L., **Damjanovich, P. G.**, Farkas, Z., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Török, O.: Emelkedő anyai életkor részesedése a császármetszés-frekvencia növekedésében.
Magyar Nőorv. L. 83 (1), 275-281, 2020.
5. Póka, R., Barna, L., **Damjanovich, P. G.**, Farkas, Z., Molnár, S., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O.: Large fetal weight alone in Robson-1 parturients doesn't translate into a risk of Caesarean delivery higher than that of a vaginal birth.
J. Obst. Gynecol. Rep. Biol. 239, 7-10, 2019.
IF: 1.868





6. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., **Damjanovich, P. G.**, Farkas, Z., Molnár, S., Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O., Tóth, Z.: Szülés módja és neonatális eredmények: terminuson túl szinguláris fejkü magzattal spontán vajúdó, először szülő nők körében.
Magyar Nőorv. Lap. 82, 228-234, 2019.
7. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., **Damjanovich, P. G.**, Farkas, Z., Molnár, S., Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O., Tóth, Z.: Születési súly és császármetszés kapcsolata: 37. hetet betöltött, szinguláris fejkü magzattal spontán vajúdó először szülő nőkben.
Magyar Nőorv. Lap. 82 (2), 56-61, 2019.
8. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., **Damjanovich, P. G.**, Farkas, Z., Molnár, S., Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A., Újvári, B., Tóth, Z.: A császármetszés frekvenciájának Robson-féle klasszifikáció szerinti elemzése a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika tízéves anyagában.
Magy. Nőorv. Lapok. 80, 76-85, 2017.
9. Póka, R., **Damjanovich, P. G.**, Károlyi, P. K., Miszti-Blasius, K., Kerényi, A., Kappelmayer, J.: A firinogénszint referenciaértékei várandósságban.
Magy. Nőorv. Lapok. 79, 10-19, 2016.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 7,256

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
5,388**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.22.

