

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

Dr. Fodor Mariann

**CITOKINEK MEGHATÁROZÁSA KÖNNYBŐL A SZEM
ELÜLSŐ SZEGMENTUMÁNAK BETEGSÉGEIBEN
(KÜLÖNÖS TEKINTETTEL PERFORÁLÓ
KERATOPLASTICA ESETÉBEN)**

Témavezetők: Dr. Facskó Andrea és Prof. Dr. Berta András



**Debreceni Egyetem OEC Szemklinika
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2009**

Tartalomjegyzék

| | |
|---|----|
| Rövidítések jegyzéke | 3 |
| 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés | 4 |
| 2. Célkitűzések | 14 |
| 3. Betegek és módszerek | 15 |
| 3.1. Betegcsoportok | 15 |
| 3.2. Könnnyűjtés menete..... | 19 |
| 3.3. Citokin mérési módszerek..... | 20 |
| 3.4. Speciális számítási metódus..... | 21 |
| 3.5. Statisztika módszerek..... | 22 |
| 4. Eredmények | 23 |
| 5. Megbeszélés | 31 |
| 6. Az új eredmények összefoglalása | 44 |
| 7. Summary of new results | 45 |
| 8. A tudományos eredmények hasznosíthatósága | 46 |
| 9. Hivatkozások jegyzéke | 47 |
| 10. Saját publikációk jegyzéke | 61 |
| 10.1. Az értekezéshez felhasznált közlemények..... | 61 |
| 10.2. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok | 62 |
| 10.3. Poszterek | 62 |
| 10.4. Az értekezés témájához kapcsolódó előadások jegyzéke | 63 |
| 10.5. Egyéb, az értekezéshez fel nem használt közlemények | 64 |
| 10.6. Egyéb idézhető absztraktok | 65 |
| 10.7. Egyéb előadások jegyzéke | 65 |
| 11. Tárgyszavak | 67 |
| 12. Köszönetnyilvánítás | 68 |
| 13. Bekötött publikációk | 69 |

Rövidítések jegyzéke

| | | |
|--------------|---|--|
| ACAID | - | elülső csarnokhoz kötött immundeviáció |
| BD | - | Becton Dickinson Immunocytometry Systems |
| CBA | - | cytometric bead array |
| ELISA | - | enzyme-linked immunosorbent assay |
| IL | - | interleukin |
| IL-1RA | - | interleukin-1 receptor antagonista |
| INF | - | interferon |
| MHC | - | major hisztokompatibilitási komplex (I., II.) |
| NK | - | természetes ölósejtek (natural killer cells) |
| PCL | - | hátsó csarnoki mülencse (posterior chamber lens) |
| PKP | - | perforáló keratoplastica |
| PMN | - | polimorfonukleáris sejt |
| SD | - | standard deviáció |
| TGF- β | - | transzformáló növekedési faktor-béta |
| Th1/ Th2 | - | helper T-sejt (1 és 2) |
| TNF | - | tumornekrózis-faktor |
| TP | - | összfehérje (totál protein) |
| VEGF | - | érnövekedési faktor (vascular endothelial growth factor) |

1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A praecularis könnyfilm a szemgolyót védi mechanikai behatások és a különböző gyulladós betegségekkel szemben. A könny minőségi és mennyiségi változása a szem elülső szegmentumának betegségeiben fontos paraméter, amelynek ismerete a különböző betegségek folyamataiban speciálisan jellemző adatokat szolgáltat (1-6). A könny nagyszámú, oldott állapotban lévő fehérje összetett rendszere (7), mely számos specifikus és non-specifikus immunkomponenst is tartalmaz (8, 9). Ezek között citokinek, kemokinek, növekedési faktorok, angiogenicus modulátorok találhatóak, melyek a sebgyógyulást, az apoptózist, a sejtciklust és a migrációt is befolyásolják. Mindezek miatt évtizedek óta használjuk a humán könnyet részletes laboratóriumi vizsgálatokra. A humán könny gyűjtése non-invazív, fájdalomtalan és ismételhető, összetételének tanulmányozásával számos betegség esetén klinikailag hasznos információkhoz juthatunk (10-18).

Az immunrendszer sejtjei állandó kölcsönhatásban állnak egymással, egyrészt közvetlen sejt-sejt kontaktus, másrészt citokinek útján. Mindaddig több mint 100 citokint azonosítottak (19). Szinonimaként általánosan használjuk az interleukin elnevezést is. A sejtközi kommunikációban ezen polipeptid regulátoroknak (glükoproteinek/proteinek/peptidek) nagyon fontos szerepe van (20). Tehát a gyulladós reakciók folyamatában a citokinek az intercelluláris kommunikációban alapvető fontosságú mediátorok. Secretiójuk gyors „turn-over”-ú, mivel a citokin mRNS-e rövid élettartamú és a szintetizált citokint a sejtek

azonnal kiválasztják. A citokinek alaptulajdonságaiból adódóan a secretiójuk mértékében történő kismértékű módosulás is mélyreható változásokat okozhat az allogén stimulusra adott immunológiai válaszban. A lokális immunválaszt a relatív citokin szintek, a citokinek egymáshoz viszonyított aránya jobban jellemezheti, mint az abszolút citokin koncentrációk (21). A citokinek hatása gyakran csak egymást követően érvényesül, ez az ún. kaszkád-jelenség. Kölcsönhatásaikban a különböző citokinek szinergisták, neutrálisak vagy antagonisták lehetnek. A citokinek egyedül vagy kombinációban aktiválják az immunsejteket és egy korai szignált jelentenek, valamint kifejtik amplifikáló hatásukat többek között a nyálkahártyák immunológiai válaszaiban (19). A citokinek a specifikus, szerzett immunitás humorális faktorai közé is tartoznak (19). A cornea immun-mediált folyamataiban egyrészt a szemfelszíni sejtek (I. táblázat), másrészt infiltráló immunkompetens sejtek által termelt citokinek vesznek részt (22). Az infiltráló immunkompetens sejtek a macrophagokon és hízósejteken kívül Th1 és Th2 (helper T) sejtek, NK (természetes ölősejtek) sejtek, PMN (polimorfonukleáris) sejtek és B sejtek is lehetnek. Azokat citokineknek, melyek kemotaxist indukálnak, kemokineknek nevezzük (20).

A citokinek a normál cornea integritásának fenntartásában is szerepet játszanak (21-24). A különböző gyulladásos citokinek a szemfelszín (bulbaris és tarsalis conjunctiva, cornea) gyulladásos és immunológiai reakcióinak szabályozásában is részt vesznek (12, 25, 26). A szemfelszín által is expresszált citokinek a szem különböző szöveteiben és nedveiben számos betegség

esetében már vizsgálták (4, 12, 14, 15, 18, 25, 27-32), azonban a gyulladásos és postoperatív reakciókban játszott pontos szerepük továbbra is tisztázásra vár.

| <i>Citokineket termelő szemfelszíni és endothelialis sejtek</i> | <i>Termelt citokinek</i> |
|---|--|
| Langerhans sejtek | IL-1 |
| Macrophagok | IL-1, IL-6, TNF, TGF- β |
| Hízósejtek | IL-4, IL-6 |
| Conjunctivális epithelsejtek | IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 |
| Cornealis epithelsejtek | IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1RA |
| Keratocyták | IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, INF- γ , IL-1RA |
| Fibroblastok | IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, INF- γ |
| ÉR endothel sejtek | IL-6, IL-8 |

I. táblázat: Szemfelszíni és endothelialis sejtek által jellemzően termelt citokinek.

Számos szemészeti betegség esetében a citokinek vizsgálata a későbbiekben terápiás beavatkozási konzekvenciákkal bírhat, ezért ezen paraméterek könnyben való vizsgálata fontos célnak tekintendő a klinikumban.

A cornea transplantatio a leggyakrabban végzett, de immunbiológiáját tekintve a legkevésbé ismert formája az allogenicus átültetésnek (33). A keratoplastica a szövet-transplantatiók egyik legsikeresebb formája. A magas eredményességi ráta a speciális corneális mikrokörnyezet következménye. Ez magában foglalja a recipiens corneák egy részének avascularis tulajdonságát, az antigénprezentáló Langerhans sejtek hiányát a cornea centrális részéből, a major MHC antigének alacsony expresszióját, az immunszuppresszív citokinek lokális termelődését és a Fas ligand expresszióját is. A transzformáló növekedési faktor-béta (TGF- β) protektív szerepét is igazolták (34, 35). Ezek mindegyike módosítja az alloimmun reakciókat (20, 36-40). A szaruhártya átültetéseket követő súlyos szövődmények, a kilökődési reakciónak a pathogenesisise régóta intenzíven kutatott terület (41-48). A cornea immunprivilegizált helyzete ellenére is, a sikertelen szaruhártya átültetések legfőbb oka még ma is a kilökődési reakció (33, 34, 38, 40, 48-52). A keratoplasticán átesett betegek utókezelésében nagy szükség lenne olyan könnyen kivitelezhető, gyors eredményt adó vizsgálmódszerekre, melyekkel az immunológiai reakció korán, lehetőleg a klinikai tünetek fellépte előtt kimutatható (42). Megfelelő módszer birtokában az immunszuppresszív kezelést egyénre szabottan, megfelelő időben lehetne elindítani és ezzel a transplantatum rejectiók számát vissza lehetne szorítani (42). Minél jobban megértjük a cornea rejectio alatt bekövetkező citokin secretio változását és a rejectióban résztvevő citokinek funkcióját, annál eredményesebben javíthatóak a terápiás és prevenciós lehetőségek. A Debreceni Szemklinikán 1979 óta végzünk

könnyvizsgálatokat keratoplasticán átesett betegeken, a transplantatum rejectio vizsgálata céljából (42, 53).

A perforáló keratoplasticát (PKP) követő postoperatív szakban a különböző citokinek jelentősége, mennyiségi és pathológiás változása jelenleg még nem tisztázott. Feltételezhető, hogy a különböző citokinek szintje nemcsak PKP után kialakult rejectio miatt változhat. Ha a komplikációmentes (azaz kilökődési/immunológiai reakció nélküli) szaruhártya-átültetéseket modellezni próbáljuk, ez a pathológiás humán könny secretio három alaptípusával lehetséges: (1) a műtéti trauma modellezése különböző postoperatív állapotoknál, (2) PKP-s varrat által okozott irritáció és következményes reflexes könnyezés, melyet gyulladás nélküli corneális idegentest okozta hypersecretioval modellezzük, (3) komplikációmentes PKP-k után gyulladás is módosítja a könnyben lévő citokinek szintjét, melyet bakteriális conjunctivitis okozta hypersecretioval lehet részben modellezni.

A Th lymphocyták az általuk secretált citokinek alapján két csoportba oszthatóak: Th 1 (INF- γ , IL-2, IL-12) és Th 2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13). A Th 1 sejtek a késői típusú, a Th 2 sejtek a humorális válasz azonnali típusú hypersensitivitási reakcióban töltik be egyik jelentős szerepüket. Az interferon- γ (INF- γ) mint egy Th 1 típusú citokin gátolja a Th 2 sejtek proliferációját, míg az interleukin-4 (IL-4), mint egy Th 2 típusú citokin a Th 1 sejtek aktivitását gátolja (54). A cornealis rejectio döntően Th 1 módon zajlik, azonban a Th 2 sejtek is szerepet kapnak benne (38, 55). Az IL-4 szerepét az allograft túlélésben és a graft tolerancia kapcsán már vizsgálták (38), lokális cornealis expressziója azonban

ellentétben az interleukin-12-vel nem fokozza állatkísérletben a graft túlélést (56). A közelmúltban a Th 1 és Th 2 sejtek mellett a Th 17 sejtek (IL-17, IL-22, TGF- β) szerepét is igazolták szerv és szövet transzplantatum rejectiója kapcsán, különösen a rejectio korai szakaszában (57). Cornealis transzplantatum rejectio alatt Th 17/Th 1 phenotípus-váltás következhet be (57).

Az **interleukin-6** (IL-6) egy pluripotens pro-inflammatoricus citokin, mely a gyulladások mediálásán kívül szerepet játszik a gyulladós folyamatok csökkentésében és bizonyos esetekben a szem immun-privilegiumának helyreállításában is (58-61). Ezt az interleukint (IL-6) csarnokvízből (27, 60, 61), könnyből (15, 18, 23, 28, 29-32, 41, 62-64) és a corneában (12, 25, 26, 65) is kimutattak már. Szerepe különböző szemfelszíni gyulladós folyamatok pathogenesisében igazolt (18, 28), többek között keratopathia bullosa (66), keratitisek (12, 26), keratoconus (8), lúgsérüléseket követő állapotok (65), ulcus corneae (12), keratoconjunctivitis vernalis (32), conjunctivára lokalizált pemphigus, keratoconjunctivitis sicca (14, 31), kontaktlencse viselés (15, 30, 64, 67) és uveitis (27, 59, 60, 68) eseteiben. Továbbá az IL-6 szerepe a szaruhártya kilökődési reakciójának pathogenesisében is intenzíven kutatott (41, 55, 58). Cataracta műtétek utáni postoperatív gyulladások esetén alapvető funkciója van, mivel a collagen szintézist stimulálja, így a sebgyógyulásban is aktív résztvevő (28, 62, 65).

Az **interleukin-8** (IL-8) az egyik legjelentősebb kemokin, elsősorban a neutrophil granulocytákra kemotaktikus hatású, de elősegíti más granulocyták és lymphocyták aktiválását is (14). Magas koncentrációban mutattak ki IL-8-at

csukott szemből vett könnyben (15, 63), bilateralis recurráló phlyctenularis keratitisben (69), kontaktlencse viselésnél (15, 30), conjunctivitis allergicában (70) és Sjögren szindróma estén fennálló keratoconjunctivitisnél (14).

A mononukleáris phagocyták által termelt **interleukin-1** hatására fokozódik a CD4⁺ Th-sejtek proliferációja és a B-sejtek növekedése, érése, valamint növekszik az immunválasz effektor sejtjeinek aktivitása és fokozódik a gyulladás, megindul a phagocyták és az endothelsejtek IL-8 termelése, ami viszont a neutrofil leukocytákat aktiválja. Az interleukin-1 két különböző gén termékeként IL-1-alfa- és IL-1-béta-polipeptidekből áll. Pro-inflammatoricus tulajdonsága révén az IL-1 β a gyulladós kaszkád elindítójaként funkcionál (4, 12, 22, 26). Az IL-1 a Langerhans sejtek centripetális mozgásának indukálója (36, 37), valamint a keratocyták apoptózisát is mediálja (71). Multifunkcionális tulajdonsága révén a cornea szöveti károsodásától a szöveti helyreállító, gyógyulós folyamatokig szerepet kap (12, 22). Rosacea és conjunctivochalasis eseteiben emelkedett IL-1 koncentrációt mutattak ki könnyben (18, 29).

A **tumornekrózis-faktor** (TNF) a Gram-negatív baktériumok és egyéb fertőzések ellen az immunrendszer egyik legfontosabb hatóanyaga. A TNF apoptózis indukáló faktor. Kimutatták, hogy a corneális endothel és epithel sejtek érzékenyek TNF- α indukálta apoptózisra. A TNF- α egy pro-inflammatoricus citokin, melynek multiplex biológiai funkciója közül a fibroblast proliferáció indukciója és az angiogenezisben betöltött szerepe a legjelentősebb. A cornealis neovascularisatio bonyolult folyamatában a TNF- α mellett az IL-1, IL-8 és számos növekedési faktor is szerepet kap, többek között az érnövekedési faktor (vascular endothelial growth

factor=VEGF) több altípusa és a transzformáló növekedési faktor-béta (TGF- β) is (22, 72, 73). A TNF- α fontos szerepet kap a cornealis sebgyógyulásban is (74). A TNF- α stimulálja az IL-8 kiválasztást, ezáltal a gyulladásos folyamatokat is elnyújtja (8, 70, 75). Állatkísérletekben emelkedett szérums TNF- α koncentrációt mutattak ki cornealis allograftok rejectiója kapcsán, mely a cornealis allograftok szisztémás immunreaktivitását igazolja (76). A TNF- α az egyik legfontosabb anti-inflammatoricus citokinnek, az IL-10 szintézisének a legfőbb indukálója. Az **interleukin-10** (IL-10) az elülső csarnokhoz kötött immundeviáció (anterior chamber-associated immune deviation=ACAID) fenntartásához elengedhetetlen. Az IL-10 angiogenikus potenciállal is rendelkezik, emellett a monocytákban és macrophagokban csökkenti az MHC-II-es molekulák expresszióját, megakadályozva ezzel azok antigén-prezentáló funkcióját (77). Az IL-10 más pro-inflammatoricus citokinek termelését is csökkenti, úgymint az IL-1 β , a TNF- α és IL-8 (78).

Az **interleukin-12** (IL-12) a gyulladásos válasz fontos szabályozója, elősegíti a természetes ölósejtek (NK sejtek, natural killer cells) és T-sejtek proliferációját, differenciálódását és aktivitását. A Th 1 sejtek proliferációját elősegíti, és így következményesen a INF- γ produkcióját növeli (56), mely citokin szerepe a cornealis rejectio folyamatában igazolt (38, 57, 61). Az IL-12 biológiailag aktív formája a 70 kDa heterodimer (IL-12p70), mely két diszulfid-híddal összekötött alegységből áll (40 kDa -p40; 35 kDa-p35). Az IL-12 szerepét már vizsgálták a különböző szövetek és szervek transplantatum rejectiója kapcsán (49), locális intraocularis produkciója bizonyítottan növeli a cornealis graft túlélését

(56). Az IL-12 az IL-10-hez hasonlóan, bár különböző módon, de az allograft válasz ugyan azon afferens szárát célozza meg, és ezzel az antigén-prezentáló sejtek érését, migrációját vagy funkcióját befolyásolja, illetve módosítja az INF- γ lokális produkcióját (56).

A könnyben található immunológiailag aktív anyagok vizsgálata a keratoplasticát követő lokális immunreakció tanulmányozásában régóta foglalkoztatja a kutatókat (7). Szaruhártya kilökődési reakció esetén a citokin és kemokin expresszióban történő változásokat állatmodellekben mind mRNS (38, 55, 79), mind fehérje (45, 80) tekintetében vizsgálták, és humán csarnokvízből történő fehérje vizsgálatokról is beszámoltak (39, 41, 61). A transplantatum rejectiot okozó sejteket, indirekt módon, a csarnokvízből meghatározott citokin szintekkel jellemezték (61). Könnyből történő meghatározásuk kívánatosnak és logikusnak tűnik, figyelembe véve azt a tényt is, hogy a könnygyűjtés atraumaticus, fájdalom- és komplikációmentes. Immunrejectio esetén a noninvazív módon gyűjtött könnyből történő citokin meghatározás lehetőségét biztosíthat a cornea endotheliumának destrukciójában résztvevő citokinek meghatározásához.

A citokin hálózat ("network") extrém komplexitása miatt több citokin egyszerre történő meghatározása kívánatos (77, 81). Az egy szemből nyerhető könny limitált mennyisége miatt korábban a könnyminták részletes analízise lehetetlen volt. Szuperszenzitív ELISA tesztek (enzyme-linked immunosorbent assay) és még inkább a cytometric bead array (CBA) technika alkalmazásával áramlási flow citométerrel végzett mérések alapján több citokin egy könnymintából történő meghatározása mára lehetővé vált (21, 24, 75, 81-84). Vizsgálatunk során

az IL-10 cornealis transplantatum rejectióban betöltött szerepére feltétlenül adatokat kívántunk kapni, tekintettel arra, hogy az IL-10 szérum koncentráció változása már egyértelműen bizonyított szervtransplantációk esetén (77, 85). Az IL-10 az egyik legigéretesebb immunszuppresszív citokin jelölt a transplantatum rejectiók kapcsán (22). Th 1 sejtek által termelt citokinek közül az IL-12, a Th 2 sejtek által termeltek közül az IL-6 meghatározására irányult a figyelmünk. A pro-inflammatoricus TNF- α és az IL-1 mellett egy kemokin, az IL-8 cornealis transplantatum rejectióban betöltött szerepének a vizsgálatát is fontosnak tartottuk.

A könny secretios sebessége jelentősen befolyásolja a könnymintákban mérhető fehérjék szintjét (86). Ezért, ha az időegység alatt levett könny mennyiség között szignifikáns különbség van, az interleukin koncentráció mellett kívánatos meghatározni az időegység alatt gyűjtött könnyben lévő citokin mennyiséget ahhoz, hogy, nagyon pontos adatokat kapjunk az aktuális immunológiai status interpretálásához. Az abszolút koncentrációk helyett illetve mellett a relatív citokin szintek sokkal jobban leírják a lokális immunológiai válaszokat (21, 24, 75, 83).

2. Célkitűzések

Tudományos munkánkban a következő célokat tűztük ki:

- I. Interleukin-6 és interleukin-8 szintek meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő különböző irritatív szembetegségek, postoperatív állapotok eseteiben, hogy új adatokat nyerhessünk a különböző immunológiai változásokról a szemészeti műtéteket követő korai postoperatív szakban, különös tekintettel a szaruhártya átültetések eseteire.
- II. Komplikáció nélküli perforáló keratoplasticán átesett betegek könnyéből gyulladásos citokinek (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 és IL-12p70) koncentrációjában történő változások tanulmányozása a postoperatív első év folyamán.
- III. Célunk volt a kilökődési reakcióban szerepet játszó citokineket meghatározni; valamint különbséget keresni a transplantatum rejectio hatására létrejövő citokin koncentrációkban bekövetkező változások és a komplikációmentes szaruhártya-átültetéssel együtt járó változások között. A különböző postoperatív időszakban komplikáció nélküli és graft rejectión átesett betegek esetében inflammatoricus citokinek (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 és IL-12p70) szintjének összehasonlítása.

3. Betegek és módszerek

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum (DEOEC) Szemklinikáján prospektív tanulmányokat végeztünk. A vizsgálatba bevont betegek és egészséges kontrollok nem szedtek olyan gyógyszert, ami befolyásolta volna a könnytermelést, valamint immunológiai eredetű betegségben sem szenvedtek. Tanulmányainkat a Helsink Deklaráció normáinak megfelelően végeztük, a könnyminta-vételek a betegek beleegyezésével történtek.

3.1. Betegcsoportok

3.1.1. A beteganyagot négy csoportba osztottunk.

Az *első csoportba* acut bacterialis conjunctivitis diagnózissal 11 beteg (átlagéletkor: 46,9 év (SD 18,3)) tartozott. Kötőhártya váladék tenyésztése nélkül, az egyértelmű klinikai tünetek alapján történt a diagnózis felállítása. Könnyminta-vétel előtt a betegek nem használtak szemcseppet.

A *második csoportba* 12 beteg (átlagéletkor: 67,3 év (SD 11,4)) tartozott, akiktől egy nappal a komplikációmentes cataracta műtét után, szemcsepp alkalmazása előtt történt a mintavétel. Hét beteg

phacoemulsificatió, öt beteg extracapsularis cataracta extraction esett át, hátsó csarnoki műlencse (posterior chamber lens, PCL) implantációval. Az irritatív komponens minimalizálása céljából olyan extracapsularis cataracta extraction átesett betegeket választottunk, akiknél a varratsor szabályos, a csomó bújtatott és a sebszél 6 mm-nél nem hosszabb volt.

A harmadik csoportba 7 beteg (átlagéletkor: 44,3 év (SD 7,8)) tartozott, akiknél a 12 órán belül a corneába került fém idegentest kifejezett könnyezést váltott ki, gyulladáshoz vezető reakció jelenléte nélkül. Réslámpával conjunctivalis hyperaemiát, mucosus/mucopurulens váladékozást nem találtunk. Könnyminta-vétel előtt a betegek nem kaptak terápiát.

A negyedik csoportba 30 perforáló keratoplasticán átesett beteg (átlagéletkor: 54,7 év (SD 19,4)) tartozott, egy héttel a komplikációmentes műtét után. A műtéti indikációk között keratoconus (9 szem), pseudophakiás bullosus keratopathia (10 szem), cornealis érzettség (6 szem), transplantatum rejectio (4 szem) és egy esetben keratouveitis szerepelt. A donor corneákat maximum egy hétig tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA). Műtét után a betegek naponta öt alkalommal kaptak corticosteroid (prednisolon acetát) és antibiotikum (neomycin) tartalmú szemcseppeket. Három esetben subconjunctivalis steroid injekcióra, öt beteg esetében intravénás vagy orális corticosteroid

terápiára volt szükség. A könnymintákat kora reggel vettük (7.00-8.00 között), még az első szemcsepp becseppentése előtt.

A betegeken kívül 52 *egészséges kontroll* (átlagéletkor: 54,8 év (SD 21,9)) könnymintáinak vizsgálatát is elvégeztük.

3.1.2./3.1.3. Tizenkét perforáló keratoplasticán átesett beteg érintett szeméből meghatározott rendszerességgel műtét előtt és után stimulálás nélkül könnymintát gyűjtöttünk. A betegek átlagéletkora 45,0 év volt (18-70 év között, SD 14,2). Kilenc komplikáció, azaz kilökődési reakciótól mentes beteg esetében postoperatív egy évig történtek a könnyminta-vételek. Három cornealis transplantatum rejectio klinikai jeleit mutató beteg esetében a kilökődési reakció felléptéig gyűjtöttük a könnymintát, így egy beteg esetében ez 14 hónapos postoperatív időszakot jelentett. A betegek adatait és a perforáló keratoplastica indikációit a II. táblázat tartalmazza. Valamennyi beültetett donor cornea a Debreceni Egyetem Szemklinikájának Cornea Bankjából származott. A donor corneákat maximum egy hétig tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA). Műtét után a betegek naponta öt alkalommal kaptak corticosteroid (prednisolon acetát) és antibiotikum (neomycin sulphat) tartalmú szemcseppeket. 5 fokozott kockázatú beteg (rekeratoplastica illetve vascularisalt recipiens)

| Beteg | Kor (év/nem) | PKP indikációja | Korábbi immun reakció | PKP és a rejekció közötti napok |
|--------------|-------------------------|---|--------------------------------------|--|
| 1 | 24 ♂ | Keratoconus | - | - |
| 2 | 55 ♀ | Keratitis herpetica, leucoma vascularisata corneae, rejectio transplantati (re-PKP) | + | - |
| 3 | 70 ♀ | Degeneratio nodulare sec. Salzmann | - | - |
| 4 | 18 ♀ | Dystrophia hereditaria endothelialis corneae | - | - |
| 5 | 59 ♀ | Keratopathia bullosa, rejectio transplantati (re-PKP) | + | - |
| 6 | 47 ♂ | Keratopathia bullosa | - | - |
| 7 | 31 ♂ | Keratoconus | - | - |
| 8 | 22 ♀ | Keratoconus | - | - |
| 9 | 60 ♀ | Degeneratio nodulare sec. Salzmann | - | - |
| 10 | 56 ♂ | Keratitis herpetica, rejectio transplantati (re-PKP) | + | 216 |
| 11 | 52 ♀ | Dystrophia corneae reticulata Haab-Dimmer, recidiv. dystrophia (re-PKP) | - | 422 |
| 12 | 46 ♀ | Keratitis superficialis chronica (pannus) | - | 83 |

II. táblázat: Betegek adatai és a szaruhártya-átültetés indikációi.

esetében a postoperatív időszakban szisztémás steroid terápiát alkalmaztunk (intravénás (kezdeti dózis: 1 mg/testsúly kg/nap) vagy orális (kezdeti dózis: 0,5 mg/testsúly kg/nap) corticosteroid).

Amíg a betegek a Szemklinikán tartózkodtak (a postoperatív első héten), a könnyminta-vételek kora reggel, szemcseppek alkalmazása előtt történtek meg. Kontrollok alkalmával a mintavétel a délelőtti órákban zajlott, szemcseppentést követően több mint egy óra elteltével.

3.2. Könnnygyűjtés menete

3.2.1./3.2.2./3.2.3. Könnnygyűjtés előtt réslámpával minden beteget megvizsgáltunk alacsony fényerő mellett, hogy a reflexes könnyezést elkerüljük. Stimulálás nélkül, atraumatikusan steril üvegapillárisba gyűjtöttük a könnymintákat, érzéstelenítő csepp adása nélkül, az alsó könny-meniscusból, ügyelve arra, hogy a szemfelszínt és a szemhéjat ne érintsük. A mintavételi idő minden esetben pontosan 2 perc volt, a levett könny mennyiségét feljegyeztük. A levett könnymintákat 15 percen belül, centrifugálás nélkül $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra fagyasztottuk le a felhasználásig.

3.2.2./3.2.3. A pipettázási és hígítási hibák elkerülése végett azokat a könnymintákat, amelyek $4\text{ }\mu\text{l}$ alattiak voltak kizártuk a vizsgálatból. Néhány esetben „száraz szem” miatt nem tudtunk könnymintát gyűjteni. A könnnygyűjtés a

műtét napján, majd az első, harmadik és hetedik postoperatív napon reggel 7.30 és 8.00 között, az első cseppentés előtt történt, majd ezt követően minden egyes szemészeti kontroll alkalmával. Transplantatum rejectio eseteiben a könnyminta-vétel a nem lokálisan alkalmazott immunszuppresszív terápia alkalmazása előtt megtörtént.

3.2.3. Corneális endotheliális rejectiót definíció szerint akut gyulladásos epizód esetén diagnosztizáltunk, amennyiben vagy endothelialis precipitatumokat és/vagy stroma oedemát megnövekedett centralis cornealis vatagsággal igazoltunk.

3.3. Citokin mérési módszerek

3.3.1. A könnyminták összfehérjéjének (TP) (biconchonic acid protein-assay kit, Rockford, IL, USA) meghatározása után interleukin-6 és interleukin-8 koncentráció meghatározást végeztünk (ultraszenzitív ELISA; BioSource International, Inc. Nivells, Belgium) a gyártó használati utasítása szerint. A teszt érzékenysége mindkét citokin esetében $<0,1$ pg/ml volt, IL-6 esetében a mérési tartomány 0,16-10,0 pg/ml között, IL-8 esetében 0,39-25 pg/ml között mozgott.

3.3.2./3.3.3. A könnyminták IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 és IL-12p70 koncentrációját cytometric bead array (CBA) technika (CBA Human Inflammation kit, BD Biosciences Pharmigen, San Diego, CA) alkalmazásával áramlási flow

citométerrel végzett mérések alapján határoztuk meg. Röviden, 15 µl könnymintát (néhány esetben hígított könnymintát) vagy standard reagenst adtunk 15 µl csapda antitest-gyöngy reagenshez (capture Ab-bead reagent). Az elegyet 30 percig inkubáltuk, majd 15 µl detektáló antitest-phycoerythrin conjugát (detector Ab-phycoerythrin conjugate) hozzáadása után további 2,5 órán át szobahőmérsékleten inkubáltuk. Mérés előtt a nem kötött reagenseket mosással eltávolítottuk. A minták citokin koncentrációjának lemérése FACSAarray™ citométerrel (BD Biosciences Immunocytometry Systems, San Jose, CA) történt. Az adatok analizálását BD cytometric bead array software (FCAP Array 1.0.1 program, SoftFlow Kft., Pécs) segítségével végeztük el. A standard görbéket a gyártó által szolgáltatott referencia citokin koncentrációk alapján szerkesztettük meg. Az ismert koncentrációjú humán citokin standard minták további hígításával a gyártó által garantálnál nagyobb szenzitivitást sikerült elérnünk: IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-8 és IL-12p70 esetén 0,04 pg, IL-10 esetén 0,02 pg volt a mérési határ.

3.4. Speciális számítási módszer

3.4.1. Az IL-6 és IL-8 release-t a citokin koncentrációkból (pg/µl) és a két perc alatt gyűjtött könny mennyiségéből (µl) számoltuk ki. A TP release-t az összfehérje koncentrációból (µg/µl) és a két perc alatt gyűjtött könny mennyiségéből (µl) határoztuk meg.

3.5. Statisztika módszerek

3.5.1. A különböző betegcsoportok eredményeit egymással, valamint a normál kontrollokkal hasonlítottuk össze. Lineáris regressziót alkalmaztunk az adatok elemzésénél. A statisztikai elemzésnél STATA Version 8.2-t használtunk. A szignifikancia kritériuma $\alpha=0,05$ volt. A változókat a normalitás javítása céljából mindig a legjobb hatást elérő módszerrel transzformáltuk. A kort, az összfehérjét, az IL-6 release-t és az IL-8 release-t valamint ezek arányait log-transzformáltuk. A könnytérfogatot és az IL koncentrációt négyzetgyök-transzformáltuk. A koncentrációt korra és a levett könny mennyiségére, a release értékeket korra korrigáltuk.

3.5.2. Kilenc komplikációmentes keratoplasticán átesett beteg postoperatív egy év alatt gyűjtött könnymintáinak átlagos citokin koncentrációinak időbeni lefutását helyi súlyozású regressziós simításos elemzéssel határoztuk meg (magyarázó változóként a napban mért követési időt véve). Az így kapott görbéket vonaldiagramon ábrázoltuk.

3.5.3. A könnyminták térfogatát, a citokinek koncentrációját és a citokinek IL-10-re vonatkozó arányát Wilcoxon teszt segítségével hasonlítottuk össze a rejección átesett és a komplikációmentes szaruhártya-átültetések esetei között. A betegcsoportonkénti átlagos citokin koncentrációk időbeni lefutását helyi súlyozású regressziós simításos elemzéssel határoztuk meg (magyarázó változóként a

napban mért követési időt véve). Az így kapott görbéket vonaldiagramon ábráztuk. A szignifikancia szintet minden esetben 0,05 alatti p értéknél határoztuk meg.

4. Eredmények

4.1. A két perc alatt gyűjtött könnyminták mennyisége 2,2 µl (az egyik kontroll) és 121,7 µl (acut bacterialis conjunctivitis csoportba tartozó beteg) között változott. Ez a különbség 55-szörös. A két perc alatt gyűjtött könny mennyiségét, a könny TP koncentrációját és a release-t a különböző betegcsoportokban, valamint a kontrolloknál a III. táblázat tartalmazza. Mivel a kontrolloktól levett könny mennyisége (alap könnytermelés) szignifikánsan kisebb ($p < 0,001$), mint a betegcsoportoktól gyűjthető könny mennyisége (reflexes könnyezés, fokozott transudatio okaként) így kívánatos volt a koncentrációk mellett az időegység alatt gyűjthető TP illetve citokin mennyiségének (release) a vizsgálata, és ezen eredmények összehasonlítása.

Megvizsgáltuk a kor és a TP release összefüggését mind a kontrolloknál, mind az összes betegből alkotott betegcsoportban. Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a kontroll csoportnál ($y = -0,33x + 60$; $r = -0,30$; $p = 0,033$). Ugyancsak negatív korrelációt találtunk a betegcsoportok esetében, határ közeli szignifikancia szint mellett ($y = -4,54x + 496$; $r = -0,25$; $p = 0,055$). Mindezek miatt, annak

érdekében, hogy a statisztikai elemzésből eltávolítsuk az életkor zavaró hatását, valamennyi p-értéket korrigáltuk életkorra.

| | Gyűjtött könny mennyisége (μ l) | TP koncentráció (μ g/ μ l) | \sim p - érték | TP release (μ g) | $\sim\sim$ p - érték |
|---------------------------------------|---|---|------------------|--------------------------|----------------------|
| Acut bacterialis conjunctivitis | 48,7 (36,9) | 8,9 (4,2) | * 0,021 | 481 (600) | * < 0,001 |
| Cataracta műtét után | 23,9 (10,3) | 4,1 (2,9) | 0,176 | 104 (94) | * 0,001 |
| Corneális idegentest | 55,1 (24,6) | 2,4 (1,5) | * 0,045 | 109 (61) | * 0,002 |
| PKP | 57,6 (35,0) | 5,1 (4,2) | 0,789 | 253 (248) | * < 0,001 |
| Kontroll | 6,2 (3,1) | 8,3 (5,9) | | 42 (24) | |

\sim p - érték : TP koncentráció a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra és könnytérfogatra korrigálva.

$\sim\sim$ p - érték: TP release a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra korrigálva.

* = $p < 0,05$

III. táblázat: 2 perc alatt gyűjtött könny mennyisége (μ l), az összfehérje (total protein (TP) koncentrációk és a TP release (μ g) (átlag és (SD)).

A levett könnyminták IL-6 koncentrációját és a release-t a különböző betegcsoportokban, valamint a kontrolloknál a IV. táblázat tartalmazza. Egészséges kontrolloknál az IL-6 koncentráció 110 pg/ml (SD 142) volt. Szignifikánsan magasabb volt az átlagos IL-6 koncentráció az acut bacterialis conjunctivitis csoportban és a PKP csoportban ($p < 0,001$ és $p = 0,040$). Az IL-6 release az összes betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (cataracta műtét után: $p = 0,003$; többi csoport: $p < 0,001$). A vizsgált három betegcsoport között azonban nem volt szignifikáns különbség.

| | Könny IL-6 koncentráció (pg/ml) | # p - érték | IL-6 release (pg) | ## p - érték |
|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------|----------------------|-----------------|
| Acut bacterialis conjunctivitis | 366 (296) | * < 0,001 | 20 (21) | * < 0,001 |
| Cataracta műtét után | 189 (184) | 0,105 | 5 (5,2) | * 0,003 |
| Corneális idegentest | 109 (72) | 0,184 | 6,3 (4,6) | * < 0,001 |
| PKP | 170 (235) | * 0,040 | 6,6 (6,7) | * < 0,001 |
| Kontroll | 110 (142) | | 0,57 (0,73) | |

p - érték: IL-6 koncentráció a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra és könnytérfogatra korrigálva.

p - érték: IL-6 release a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra korrigálva.

* = $p < 0,05$

IV. táblázat: IL-6 koncentráció (pg/ml) és a 2 perc alatt gyűjtött könnyre vonatkoztatott IL-6 release (pg) (átlag és (SD)).

A levett könnyminták IL-8 koncentrációját és release-t a különböző betegcsoportokban, valamint a kontrolloknál az V. táblázat tartalmazza. Egészséges kontrolloknál az IL-8 koncentráció 572 pg/ml (SD 637) volt. Szignifikánsan magasabb volt az átlagos IL-8 koncentráció az acut bakteriális conjunctivitis csoportban ($p=0,038$). Az IL-8 release a cataracta műtéten átesett

| | Könnny IL-8 koncentráció (pg/ml) | ### p - érték | IL-8 release (pg) | #### p - érték |
|---------------------------------------|--|------------------|----------------------|-------------------|
| Acut bacterialis conjunctivitis | 661 (550) | * 0,038 | 31 (35) | * 0,001 |
| Cataracta műtét után | 171 (144) | 0,470 | 4,4 (4,2) | 0,053 |
| Corneális idegentest | 203 (170) | 0,977 | 13 (13) | * 0,030 |
| PKP | 220 (277) | 0,847 | 8,6 (5,4) | * < 0,001 |
| Kontroll | 572 (637) | | 2,8 (2,9) | |

p - érték: IL-8 koncentráció a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra és könnytérfogatra korigálva.

p - érték: IL-8 release a betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra korigálva.

* = $p < 0,05$

V. táblázat: IL-8 koncentráció (pg/ml) és a 2 perc alatt gyűjtött könnyre vonatkoztatott IL-8 release (pg) (átlag és (SD)).

betegek kivételével az összes betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (acut bakteriális conjunctivitis: $p=0,001$; cornealis idegen test: $p=0,03$; PKP: $p<0,001$). A vizsgált három betegcsoport között azonban IL-8 koncentráció és release tekintetében nem volt szignifikáns különbség.

Megvizsgáltuk az IL-6 és IL-8 release és a TP release arányát a különböző betegcsoportokban és összehasonlítottuk a kontroll csoportnál kapott aránnyal. Az IL-6/TP release arány az összes betegcsoportban szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (acut bakteriális conjunctivitis: $p=0,010$; cataracta műtétek után: $p=0,048$; cornealis fém idegentest esetében: $p=0,007$; PKP: $p=0,002$). Az IL-6/TP koncentráció arány az acut bakteriális conjunctivitis diagnózisú betegcsoportnál ($p=0,041$) és a cornealis fém idegentestet tartalmazó csoportnál ($p=0,029$) szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoport arányához képest. Sem az IL-8/TP release arány, sem az IL-8/TP koncentráció arány nem mutatott szignifikáns különbséget a betegcsoportokban a kontrollokhöz képest. Sem az IL-6/IL-8 release, sem az IL-6/IL-8 koncentráció nem volt szignifikánsan magasabb a betegcsoportokban a kontrollokhöz viszonyítva.

4.2. Kilenc komplikációmentes keratoplastican átesett betegtől egy év alatt összesen 76 könnymintát gyűjtöttünk. A 9 komplikációmentes PKP közül kettő magas, 7 alacsony rizikójú csoportba tartozott (ld. II. táblázat). Az egyes betegek könnyében mért citokinek koncentrációjának időbeli változása hasonló mintázatot mutatott. Maga a műtéti trauma az összes citokin tekintetében nagymértékű

kiáramlást okozott. A legmagasabb koncentráció-emelkedést a praeoperativ értékhez képest az első postoperativ napon az IL-6 (25-szörös) és az IL-8 esetén (8-szoros) kaptuk. IL-10 és TNF- α esetén bifázisos választ láttunk. Egy évvel a PKP-t követően az IL-1 β , az IL-6 és az IL-8 koncentrációja visszatért a beültetés előtti szintre.

4.3. A 9 komplikációmentes és a 3 rejection áteső betegről összesen 105 könny minta került lemérésre és értékelésre. Szaruhártya-átültetést követően 14 hónapon belül 3 beteg esetében transzplantátum rejectio következett be, míg 9 betegnél nem észleltünk komplikációt, a corneák transzparenssek maradtak (teljes követési idő: 2,5 év). Mind a három kilökődött cornea esete a nagy kockázatú szaruhártya-átültetések közé tartozott. Az immunrejectio az átültetést követő 216., 422. valamint 83. napon lépett fel. A kilenc komplikációmentes PKP közül kettő magas, hét alacsony rizikójú csoportba tartozott (ld. II. táblázat). A két perc alatt gyűjtött könny minták mennyisége között a rejection áteső és komplikációmentes eseteket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,096$).

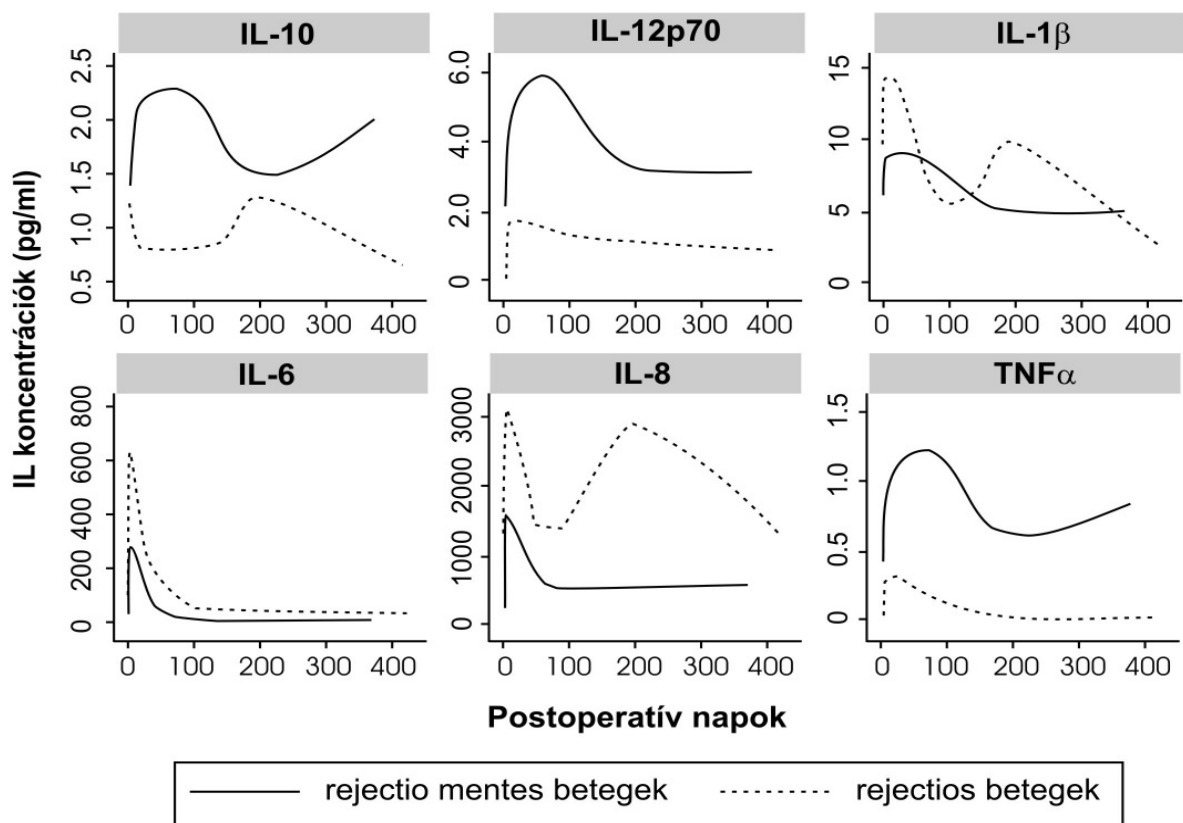
Habár a különböző betegeknél a citokin koncentrációk a vizsgált postoperativ időszakban nagy különbségeket mutattak, az időbeli változások hasonló, jellegzetes mintázatot adtak. Maga a műtéti stressz gyors citokin kiáramlást okozott. Ez minden esetben kimutatható volt, függetlenül a később esetlegesen bekövetkező kilökődési reakciótól. A korai postoperativ fázisban (1 és 3. nap) az összes vizsgált citokin (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 és IL-12p70)

szintje emelkedett, amelyet inkább a műtéti trauma, mintsem az allogén válasz váltott ki.

Az IL-6 esetében a praeoperativ értékhez képest az első postoperativ napon 25-szörös koncentráció-emelkedést kaptunk, függetlenül a későbbi kilökődési reakciótól. Az IL-8 tekintetében csaknem ötszörös koncentráció-emelkedést váltott ki a műtét a postoperativ első napon a praeoperativ alapállapothoz képest, mely mind a végig transparensten maradó, mind a később kilökődő corneák esetében jellemző volt.

A pro-inflammatoricus IL-1 β koncentrációjának időbeli lefutása a többi citokinhez képest eltérő mintázatot mutat: a kezdeti alacsony szint közvetlenül a transplantatio után megemelkedik, majd a tisztán maradó korongok eseteiben a postoperativ 6 hónap alatt lassan lecsökken. Ezzel szemben a kilökődő transplantatumok eseteiben a műtétet követő korai citokin release kifejezettebb, amely hirtelen lecsökken, majd a rejectio bekövetkezte előtt egy második csúcsot figyelhetünk meg. Hasonlóan az IL-1 β -hoz, az IL-8 koncentrációja is megemelkedik a kilökődési reakció előtt. Ezzel szemben a korai IL-12p70 válasz kifejezetten lecsökken, mind a komplikációmentes, mint a transplantatum rejection áteső betegekből származó könnymintákban.

A nem-komplikált PKP estén hasonló bifázisos választ kaptunk az IL-10 és a TNF- α tekintetében. A lassú csökkenés után egy évvel a beültetést követően egy második csúcsot észleltünk e két citokint szemlélve (1. ábra), amely feltehetőleg a postoperativ sebgyógyulással függhet össze. A TNF- α koncentrációja azonban végig, még rejectio bekövetkeztekor is alacsony szinten mozgott.



1. ábra.: IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-8, IL-10 és IL-12p70 koncentráció (pg/ml) változása a postoperatív időszakban (napok) rejección áteső (---) és rejeccio mentes (—) esetekben.

Az IL-6 és IL-8 koncentrációja szignifikánsan magasabb ($p=0,009$ és $p=0,01$), míg az IL-10, TNF- α és IL-12p70 koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt ($p=0,008$, $p=0,006$ és $p=0,0009$) a kilökődési reakción átesett betegek könnyében, a komplikáció nélküli esetekkel összehasonlítva, míg az IL-1β koncentrációja nem különbözött szignifikánsan ($p=0,383$).

Mivel a pro- és anti-inflammatoricus citokinek aránya meghatározza a szemgyulladásos statusát, ezért megvizsgáltuk az IL-6, a TNF- α és az IL-8

koncentrációk IL-10-hez viszonyított arányát is. A kilökődési reakción áteső betegeknel az IL-6/IL-10 és IL-8/IL-10 aránya a vizsgált időszakban végig szignifikánsan magasabb ($p=0,0231$ és $p=0,015$), míg a TNF- α /IL-10 aránya szignifikánsan alacsonyabb ($p=0,045$) volt a komplikációmentes esetekhez képest.

5. Megbeszélés

Az elvégzett kutatásaink eredményeképpen betekintést nyertünk a szem elülső szegmentumát érintő különböző gyulladásos megbetegedéseket és postoperatív állapotokat követő komplex immunológiai történésekbe, valamint ezek humán könnyből történő precíz detektálásának lehetőségébe. Kutatásunk első része rámutatott arra a tényre, hogy a különböző műtéteket követő normális sebgyógyulási folyamatok valamint acut bacterialis conjunctivitis és irritáló cornealis idegentest eseteiben is a citokineknek fontos szerepük van a sejtközötti kommunikációban. Kutatásunk második felében képet kaptunk a komplikációmentes perforáló keratoplasticát követő postoperatív időszak speciális immunológiai történéseiről és adatokat nyertünk a cornealis transplantatum rejectióban szerepet játszó különböző citokinek koncentrációjáról és koncentráció változásairól.

Vizsgálataink első lépéseként különböző, a szem elülső szegmentumát érintő pathológiás állapotoknál gyűjtött könnyminták totál protein és kétféle citokin tartalmát hasonlítottuk össze egymással, valamint egészséges kontrollokkal. A szem elülső szegmentum gyulladással járó betegségeiben a könnyből kimutatható fehérje összetételbeli változások régóta intenzíven kutatott területe a szemészetnek (7, 87). Jelen vizsgálatunk során megerősítettük, hogy az IL-6 és az IL-8 az egészséges humán könnyben is megtalálható, annak normális alkotórésze (23). Vizsgálatunk során magasabb IL-6 koncentrációt mértünk egészséges kontrolloknál, mint Tishler és munkatársai (110 pg/ml vs. 42,1 pg/ml), bár a kimutatáshoz használt ELISA szenzitivitása azonos volt (<0,1 pg/ml) (31). Számos szerző korábban nem detektált IL-6-ot normál könnyben, ezt a nem megfelelő metodika, és az alacsony szenzitivitás okozta, magyarázhatja (32, 63, 64).

Nakamura szerint gyulladással járó jelek nélküli egészséges szemeknél relatíve magas IL-6 és IL-8 szint a szemfelszín homeosztázisának fenntartásában játszhat szerepet (23). Munkacsoportja egészséges kontrolloknál 230 pg/ml IL-6 és 730 pg/ml IL-8 koncentrációt mért stimulálás nélkül és 12 pg/ml IL-6 illetve 280 pg/ml IL-8 koncentrációt a stimulálás mellett gyűjtött és „pooling”-olt könnyben. Ezen eredmények jól összehasonlíthatóak az általunk mért értékekkel, azonban a stimulálás nélkül gyűjtött könny mennyiségében tízszeres különbség volt (2-20 µl). Ezt a tényt a szerzők nem vették számításba (23). A szemfelszíni epithelium által termelt fehérjék esetében a könny secretiós sebessége nagyban befolyásolja a vizsgálandó mediátorok koncentrációját, mert a könny bizonyos esetekben hígítja, kimossa a fehérjéket, csökkentve a protein koncentrációt (7, 11, 86, 88). Mindezek

ismeretében a könnyben lévő anyagok koncentrációját kiértékelni csak a könny secretiós sebességének („tear flow rate”) ismeretében lehet (11, 62, 89-90). Nyilvánvaló, hogy a szem elülső szegmentumát érintő irritatív betegségek, postoperatív állapotok eseteiben szükségtelen stimulálni ahhoz, hogy elegendő humán könnymintát gyűjtsünk 2 perc alatt. Jelen első vizsgálatunkban a két perc alatt gyűjtött könny mennyisége szignifikánsan magasabb volt a betegcsoportoknál, a kontrollokhoz képest ($p < 0,001$). A különböző irritatív szembetegségek és postoperatív állapotok esetén a betegcsoportokon belül az egyes betegektől gyűjthető könny mennyiségében is igen nagy volt a különbség. Ez függ az egyéni érzékenységtől, valamint a betegség stádiumától, súlyosságától is. A betegekből származó minták értékei megbízhatóan csak akkor hasonlíthatóak össze egymással és az egészséges kontrollok eredményeivel, ha az interleukin koncentráció mellett a release értékeket is figyelembe vesszük, mely az interleukin koncentráció és az időegység alatt levehető könny mennyiségének szorzata. Így a különböző könnysecretiós illetve könnytérfogati különbségeket is megfelelően számításba vehetjük. Mindezekon felül kimutattuk, hogy az összfehérje, az IL-6 és IL-8 release tekintetében az életkornak befolyásoló hatása van, mind a betegeknél, mind a kontrolloknál. Következésképpen az összes adatot életkorra korrigáltuk, hogy kiiktassuk az életkor zavaró hatását. Az életkor előrehaladtával bekövetkező könnyfehérje profil-változásról már beszámoltak (91).

Barton két lehetséges okkal magyarázta a könnyben lévő emelkedett citokin koncentrációt: egyrészt a szemfelszíni epithelialis és gyulladássos sejtek általi fokozott secretióval, release-zel, másrészt pedig a csökkent könnyelfolyással (29).

Mivel ez a két tényező nem választható szét a könnygyűjtés közben, így a pontos gyűjtési idő nagy jelentőséggel bír, különösen a nem stimulált könnyeknél. A könny secretiós sebességével Malecaze is kalkulált és photorefractiv keratectomia után emelkedett „IL-6 flux” rátát (29,3-693 pg/min) detektált (28). Azonban a jelen vizsgálat IL-6 és IL-8 release értékeit számos korábbi cikk eredményeivel nem tudjuk összehasonlítani, mert az ismert irodalmi közlemények csak az abszolút fehérje koncentrációt közlik, sokszor az időegység alatt levett könny mennyiséget és a gyűjtési időt sem említve (23, 31, 32, 63, 64).

Jelen vizsgálatunk során a pathológiás könny secretio három alaptípusát vizsgáltuk, ezzel részben a komplikációmentes, erezetlen recipiensnél végzett perforáló keratoplasticát kívántuk modellezni:

(1) a keratoplastica utáni postoperatív állapot mindig együtt jár a kötőhártya ereinek megnövekedett permeabilitásával és így a plasma proteinek könnybe történő transudatiójával. Ebből a célból vizsgáltunk az egy nappal cataracta műtéten átesett betegeket.

(2) komplikációmentes perforáló keratoplastica után gyakran észlelhető kifejezett könnyezés a varratok irritáló hatása miatt, így cornealis idegentest miatt könnyező szemeket is bevontunk a vizsgálatba.

(3) a keratoplasticát követő időszakban bár ritkán fordul elő gyulladás, megléte azonban elfedheti a transplantatum rejectio immunológiai jellegzetességeit. Mivel a bacterialis gyulladás a citokinek produkcióját nagyban növeli, ezért az acut bacterialis conjunctivitis pozitív kontrollként is tekinthető. Jelen első vizsgálatunk során a perforáló keratoplasticán átesett betegeken kívül ezt a három, a szem

elülső szegmentumát érintő állapotot vizsgáltuk meg, demonstrálva az IL-6 és IL-8 koncentráció és release változásait.

A kontroll csoporthoz képest jelentősen emelkedett IL-6 release volt megfigyelhető valamennyi betegcsoportban, azonban az IL-6 koncentrációja csak acut bacterialis conjunctivitisnél és egy héttel a komplikációmentes keratoplastica után volt szignifikánsan magasabb. A betegcsoportok között szignifikáns különbséget az IL-6 release tekintetében nem találtunk, ez azonban a csoportok relatíve kis létszáma miatti csekély statisztikai erővel is magyarázható.

Az IL-6 az intraocularis és a szemfelszíni gyulladós folyamatokban is fontos mediátor. Az IL-6 a keratocyták collagen szintézisét, valamint a cornea epithelium gyógyulását is elősegíti (28), így a perforáló keratoplastica után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot jelzi, jelezheti.

Vizsgálatunk eredménye azt bizonyítja, hogy az IL-6 nemcsak szemfelszíni gyulladásokban, hanem postoperatív állapotokban, így cataracta műtétet és PKP-t követően is fontos szerepet játszik. Megállapíthatjuk, hogy az IL-6 szenzitív indikátora a különböző irritatív elülső szegmentum szembetegségek megjelenésének, valamint az inflammatorikus és infectiosus állapotokat jellemezheti. A legmagasabb IL-6 release értéket az acut bacterialis conjunctivitis esetén észleltük, amellett, hogy valamennyi betegcsoportban szignifikánsan magasabb értékeket kaptunk a kontrollokéhoz képest. Az IL-6/TP release arány is valamennyi betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál.

Szignifikánsan magasabb IL-8 release volt kimutatható az összes betegcsoportban a kontrollokhoz viszonyítva, a cataracta műtéten átesett betegek kivételével. Az IL-8 koncentráció ugyanakkor csak az acut bacterialis conjunctivitis esetében volt szignifikánsan magasabb, a többi betegcsoportban a koncentráció még alacsonyabb is volt, valószínűleg a reflexes könnyezés okozta dilúciós hatás miatt.

Thakur kimutatta, hogy az IL-6 és IL-8 koncentrációja megemelkedik alvás közben, a sokáig csukva tartott szemből vett könnymintákban. A szerzők szerint az IL-8 alvás közben a könnyben illetve a szemfelszínen kimutatható fő kemokin (15, 63). Az alvás alatt mért kifejezetten magas IL-8 koncentráció (24-148 ng/ml), 0,8-1,2 µl/perc "tear flow rate" mellett volt mérhető. Ezekben az esetekben az összfehérje szintén magas volt (18-24 mg/ml). Érdekességképpen megjegyzendő, hogy alvás közben 50-szer nagyobb IL-8 koncentrációt mértek a csukott szemből vett könnymintákból, ha összehasonlítjuk saját, egészséges, nyitott szemből vett kontrollmintáinkból kapott eredményeinkkel. Az IL-6 koncentráció azonban hasonló volt Thakur és a mi vizsgálatunk esetében. Mindemellett a „tear flow rate”, azaz a könny secretiós sebessége és a TP koncentráció jelentősen különbözött (15).

A különböző betegcsoportokban tapasztalt magas IL-6 és IL-8 release részben a magasabb könny secretiónak köszönhető. Vizsgálatainkból arra következtethetünk, hogy amikor a könny secretiós sebessége jelentősen különbözik az összehasonlítandó betegcsoportok között, a helyileg képződött

fehérjékben történő változások követésére a fehérje release sokkal megbízhatóbb indikátor, mint a koncentráció érték.

Gondolatmenetünket tovább folytatva kerestük a komplikációmentes, azaz kilökődési reakció nélküli szaruhártya átültetéseket követő és jellemző immunológiai történéseket és azok könnyből történő precíz kimutathatóságát. A különböző citokinek jelentősége, normális és pathológiás szintje a keratoplastica postoperatív időszakában nem teljesen ismert. Ahhoz, hogy a kilökődési reakcióban szerepet játszó mediátorokat, citokineket beazonosíthassuk, szerepüket igazoljuk, szükséges volt áttekinteni mely citokinek vesznek részt a normális postoperatív történésekben, a sebgyógyulás bonyolult folyamatában. Komplikáció és kilökődés-mentes PKP után 1 évig hat citokin (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 és IL-12p70) folyamatos jelenlétét mutattuk ki könnyben. A korai postoperatív citokin válasz műtéti traumának, szöveti destrukciónak illetve a varróanyag irritáló hatásának tulajdonítható, mintsem az allogén válasznak. Az IL-1 β , TNF- α , IL-10 és IL-12p70 szintje a transplantatio után folyamatosan magas koncentrációban volt kimutatható. Állatkísérletekben egészséges és átültetett corneák esetében sem tudtak kimutatni IL-1 β -t, azonban a TNF- α nagymértékű expresszióját igazolták PKP után (79). Interleukin-10 és TNF- α esetén kapott bifázisos eredmény a postoperatív gyógyulással függhet össze, ugyanúgy, mint a megemelkedett IL-6 koncentráció. Funding és munkatársai szerint a komplikációmentes szaruhártya-átültetések esetében a csarnokvízben nem mutatható ki IL-6 koncentráció-emelkedés (41). Ezzel ellentétben mi azt igazoltuk, hogy tiszta transplantatumok

esetén is, könnyben alacsony koncentrációban folyamatosan mérhető az interleukin-6, melynek szintje csak a postoperatív első év végére jut el a transplantációt megelőző szintre. Erre számos magyarázat létezik: az IL-6-nak nagy szerepe van a cornealis transplantátum transpareniciájának fenntartásában; stimulálja a keratocyták collagen szintézisét; valamint a corneális epithelialis gyógyulást is elősegíti. Tehát a perforáló keratoplastica után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot is jelzi, jelezheti. Az IL-6 része az endogén anti-inflammatoricus rendszernek is.

A PKP-t követő emelkedett IL-10 koncentráció szint graft toleranciát kifejtő hatást jelezhet. A graft tolerancia kifejtő effektus az anti-inflammatoricus interleukin modifiáció egyik kifejezője. Megemlítésre érdemes, hogy az IL-1 β szintje fél évvel a szaruhártya átültetés után érte el a praetransplantatios, háttér koncentráció szintet.

Összegezve elmondhatjuk, hogy a kapott eredményeink a PKP-t követő komplex immunológiai történésekre, különböző inflammatoricus citokinek fiziológiás postoperatív szerepére és jelentőségére mutat rá.

A perforáló keratoplasticát követő immunológiai történések és a kilökődési reakció bár intenzíven kutatott területek, számos kérdés még megválaszolásra vár. További vizsgálatainkban célunk volt meghatározni a különböző citokinek szerepét a szaruhártya átültetéseket követő kilökődési reakcióban.

Korai postoperatív szakban az általunk vizsgált citokinek koncentrációja mind a később rejection áteső, mind a transpareniciájukat megőrző graftok

eseteinek könnymintáiban hirtelen megemelkedik, majd gyorsan lecsökken. Így ez a korai citokin válasz független a később esetlegesen bekövetkező kilökődési reakciótól. Kimutattuk azonban, hogy azon betegek könnyében, akiknél szaruhártya-átültetést követően transzplantatum rejectio következik be, a vizsgált postoperatív egy év folyamán szignifikánsan magasabb az IL-6 és IL-8 szint, és ezzel egyidejűleg alacsonyabb az IL-10, a TNF- α az IL-12p70 koncentrációja, mint a komplikációmentes betegek könnyében.

A komplikáció nélküli esetekhez képest a transzplantatum rejectión átesett betegek esetében az általunk könnyből kimutatott szignifikáns IL-6 emelkedés alátámasztja azt a korábbi megfigyelést, miszerint PKP-t követő endothelialis rejectiónál csarnokvízben emelkedett IL-6 szint mutatható ki (61). Megjegyzendő azonban, hogy gyulladássos jelek esetén is magas a corneában lévő IL-6 szintje (12). Vizsgálataink azt mutatják, hogy az IL-6 koncentráció változása önmagában nem tudja előre jelezni a kilökődési reakció bekövetkeztét. Torres és munkatársai a postoperatív szakban elnyújtott IL-6 és IL-10 expressziót figyeltek meg cornealis allograftokban, ellentétben az autograftokkal, ahol az interleukin expresszió csak rövid ideig volt kimutatható (55). Állatmodellekben IL-6 és IL-10 mRNA up-regulációt mutattak ki közvetlenül a transzplantatio után, mely rejectio esetén folyamatosan magas maradt, azonban később normalizálódott a ki nem lökődő esetekben (55). Az eltérő kutatási eredmények közötti látszólagos ellentmondásoknak több oka is lehet: egyrészt a különböző beteganyag, másrészt a vizsgált minták különbözősége (csarnokvíz, cornea, könny). A különböző módszerek (ELISA, CBA) eltérő érzékenysége is megnehezíti az eredmények

összehasonlítását. Mindezek mellett az állatmodellekből kapott eredmények nem vethetők össze direkt módon a humán szituációkkal (92). Az IL-6-nak alapvető szerepe van az átültetett corneális graftok transzparenciájának fenntartásában, mivel stimulálja a collagen szintézist és segíti a sebgyógyulást, valamint az endogén anti-inflammatoricus rendszerben is fontos szerepet kap (58).

Vizsgálatunk azt bizonyítja, hogy a cornealis graft ellenes tolerancia IL-10 által való fenntartása fontos a kilökődési reakció megelőzésében. Ismeretes és nagy fontossággal bír, hogy az IL-10 jelenléte alapvető fontosságú az elülső csarnokhoz kötött immundeviáció („anterior chamber-associated immune deviation”) fenntartásában. Ez az anti-inflammatoricus citokin az angiogenezisben is szerepet játszik. Jelen vizsgálatunkban az IL-10 koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt a transplantatum rejection áteső betegeknél, mint a transzparens grafttal bíró betegek esetében. Ez az alacsony IL-10 szint az endotheliális immunrejection eseteiben a transplantatum rejectio pathofiziológiájának fontos jelzője lehet. Az IL-10 jelenléte állatmodellekben csökkenti a graft rejectiót és növeli a transplantatum túlélést (92-94). Saját eredményeinkből feltételezhetjük, hogy a szaruhártya-átültetést követően a könnyben kimutatott emelkedett IL-10 szint a graft toleranciát jelzi, és a kezdődő rejectio során az IL-10 a gyulladásozó T-helper válasz egyik gátló faktoraként hathat. Az IL-10 jelenléte csökkenti az MHC II. osztályú membrán fehérjéinek expresszióját a monocyta/macrophag rendszer sejtjein, befolyásolva ezzel antigén prezentáló funkciójukat. Az IL-10 azáltal szabályozza a monocytákat, hogy csökkenti más pro-inflammatoricus citokinek (TNF- α , IL-1 β és IL-8) produkcióját. Az irodalomból ismeretes, hogy az IL-10 az

aktivált T-sejtek apoptózis indukciója után is felszabadul (38). Saját, könnyből kimutatott eredményeinkkel ellentétben más szerzők komplikációmentes cornea transplantatio eseteiben nem tudtak kimutatni a csarnokvízből IL-10-et, de megállapították, hogy elégtelen immunszuppresszív mechanizmusok jelenlétében a transplantatum kilökődési esélye megnő (61).

A vizsgálatainkban használt humán könnymintákból származó eredmények alapján az IL-1 β és IL-8 koncentrációja megemelkedett a transplantatum rejectio bekövetkezése előtt. Ezt a „második csúcsot” több citokin esetében állatmodellekben is kimutatták már rejectioban lévő cornea transplantátumok esetén (38). Az IL-1 β egy multifunkcionális, pro-inflammatoricus citokin, mely a corneában képes a gyulladáshoz vezetni és szöveti károsodást okozni, azonban mindemellett a szöveti újjáépülési („repair”) folyamatokban is szerepet kap (22). Ezzel magyarázható, hogy saját vizsgálatunkban miért nem találtunk szignifikáns különbséget a kilökődő és a komplikációmentes esetek könnymintáiban mért IL-1 β szintek között. Habár az IL-1 β koncentrációjában bekövetkező változások nem jelezték előre a transplantatum kimenetelét, az IL-1 β -nak szerepe lehet a kilökődési reakcióban, mely további vizsgálatok elvégzésére ösztönöz. Az IL-1 β , IL-8 és TNF- α a neovascularisatio bonyolult folyamatában is részt vesz, és mind a TNF- α , mind az IL-1 β autocrin tulajdonsága révén tovább fokozza az IL-6 és IL-8 expresszióját (22, 58). Pro-inflammatoricus citokinek (IL-1 β és TNF- α) megnövekedett expressziója figyelhető meg fokozott rizikójú cornea transplantatio esetén, mely a szöveti infiltrációban is fontos szerepet játszik (45, 95). Kilökődő cornealis allograftok eseteiben a corneában, a

csarnokvízben és a szérumban mRNS, és fehérje szintek mérésével fokozott TNF- α expressziót találtak (55, 76, 79). Ezzel ellentétben, mi a komplikáció/kilökődési reakció mentes esetek könnymintáihoz képest szignifikánsan alacsonyabb TNF- α koncentrációt mértünk azon betegek könnymintáiban, akiknél kilökődési reakció zajlott le. Ez elképzelhető, hogy a cornealis epithelialis és endothelialis sejtek TNF- α indukálta apoptózisra való érzékenységének köszönhető (40).

A cornealis graft antigénekkal szembeni immunitás indukciója a cornea transplantatio után a drenáló nyirokcsomókon keresztül történik, IL-12 és INF- γ függő mechanizmuson keresztül (96). Szignifikáns IL-12 mRNS up-regulációt mutattak ki kilökődő cornealis allograftok esetében patkányokban (38). Az IL-12p40 lokális felszabadulása eredményeképpen az aktivált T-sejtek infiltrációja és a Th1 citokinek felszabadulása gátlás alá kerül. Ezek a folyamatok fontos szerepet játszanak a cornealis graft rejectio folyamatában, azonban valószínű nem elégségesek a rejectio megelőzésében (49, 55). Eredményeink szignifikánsan alacsonyabb IL-12p70 szintet igazoltak transplantatum rejectión áteső betegek könnyében, ha összehasonlítjuk a nem-komplikált esetekkel, ami korábbi szerzők eredményeivel összhangban áll (56).

A különböző könnyminták legátfogóbb összehasonlítását a pro- és anti-inflammatoricus citokinek aránya jellemzi. A pro- és anti-inflammatoricus citokinek arányának eltolódása kilökődési reakcióhoz illetve csökkent cornealis graft toleranciához vezethet. Vizsgálatunk során a transplantatum rejectio eseteiben észlelt alacsonyabb IL-10 és TNF- α valamint az emelkedett IL-6 és IL-8 szint maga

után vonta az IL-6/IL-10 és IL-8/IL-10 arány növekedését, valamint a TNF- α /IL-10 arány csökkenését.

Kapott eredményeink ellenére jelen vizsgálatunk limitációs faktorait a következőkben foglalnánk össze: 1) a könnygyűjtésbe bevont betegek alacsony száma, 2) néhány könnymintában az IL-10, IL-12 és TNF- α koncentrációja közel volt a kimutathatósági küszöbhez, ami nehezítette a pontos meghatározást, 3) az alkalmazott terápia nem volt egységes a komplikált és a komplikációmentes esetekben. Statisztikai analízisünk a szteroid kezelés zavaró hatását jelenleg nem igazolta. Az általunk vizsgált citokinek közül teljes biztonsággal egyik sem képes a rejectiót előre jelezni. Transzplantatum rejectio vizsgálatok a citokinek vérből történő vizsgálata további, szisztémásan megjelenő jelekre utalna. További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy megtaláljuk azt a citokin kombinációt, amely valóban képes előre jelezni a PKP-t követő esetleges kilökődési reakciót. Jelen kísérleteink a vizsgálati és a diszkussziós nehézségek ellenére is az első lépések abba az irányba, hogy a szaruhártya-átültetést követő immunológiai célú könnyvizsgálatok hogyan segíthetnek a klinikai kép hosszú távú megítélésében, valamint a rejectió-preventív célú terápia kutatásában.

6. Az új eredmények összefoglalása

I. Kimutattuk, hogy humán könnyben az IL-6 és az IL-8 release megnövekszik a szem elülső szegmentumát érintő, általunk vizsgált betegségek és postoperatív állapotok eseteiben. Ez a két interleukin érzékeny indikátora a különböző irritatív elülső szegmentum betegségeknek, külön hangsúlyozva a szaruhártya-átültetéseket.

II. A levett könnymintákból perforáló keratoplastica után 1 éven át *hat* citokin folyamatos jelenlétét tudtuk igazolni. A korai jelentős citokin válasz műtéti traumának, szöveti destrukciónak illetve a varróanyag irritáló hatásának tulajdonítható. Az eredmények a komplikációmentes szaruhártya-átültetéseket követő komplex immunológiai történésekre mutatnak rá.

III. Cornealis transplantatum rejectio esetén a könnyben mért emelkedett IL-6 és IL-8 és az ezzel együtt járó csökkent IL-10, TNF- α és IL-12p70 szint a szaruhártya-átültetést követő graft rejectio indikátora lehet.

7. Summary of new results

I. The results of our experiments have shown, that the release of IL-6 and IL-8 into the tears is enhanced in various anterior segment eye diseases, including penetrating keratoplasty. This fact seems to be used as an indicator of various inflammatory reactions in the early postoperative period.

II. We had proved the continuous release of six cytokines throughout 1 year after uncomplicated penetrating keratoplasty. The early cytokine responses could be attributed to the physical damage to the cornea, a result of tissue injury and the presence of suture material. These findings emphasise the complex immunological events after penetrating keratoplasty.

III. The enhanced release of IL-6 and IL-8 into the tears of patients with corneal graft rejection concomitant with decreased concentrations of IL-10, TNF- α and IL-12p70 may possibly serve as an indicator of the rejection process.

8. A tudományos eredmények hasznosíthatósága

A szaruhártya-átültetés a leggyakrabban végzett szövet-transzplantációk közé tartozik. Rettegett szövődményének, a kilökődési reakciónak az előfordulási gyakorisága mind a kedvező, mind a kedvezőtlen prognózisú eseteket tekintve az elmúlt évtizedekben lényegesen nem változott.

A citokinek könnyből történő kimutatása és koncentrációjukban történő változásának vizsgálata lehetőséget ad arra, hogy a graft rejectiót megelőző sejtközötti pathológiás kommunikációról adatokat kapjunk. Jelen humán könnyből történő vizsgálatunk eredményei kapcsán elsőként számolunk be a graft rejectiót jellemző komplex immunbiológiai folyamatokról. Ezzel az első lépést tettük abba az irányba, hogy a graft rejectiót megelőző specifikusan jellemző citokin secretióban bekövetkező változást idejében kimutathassuk. Ez a későbbiben alapja lehet a cornealis transplantatum rejectio egyénre szabott, speciális kivédésének, terápiás beállításának lehetőségeire, nagymértékben szolgálva ezzel a betegek érdekeit.

9. Hivatkozások jegyzéke

1. Berta A: A polyacrylamide-gel electrophoretic study of human tear proteins. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 1982; 219: 95-99.
2. Bjerrum K.B., Prause J.U.: Collection and concentration of tear proteins studied by SDS gel electrophoresis. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 1994; 232: 402-405.
3. Tózsér J., Berta A.: Lactate dehydrogenase activity in pathological human tears obtained with glass capillaries correlates with the albumin content. Int Ophthalmol 1998; 22: 289-292.
4. Solomon A., Dursun D., Liu Z., Xie Y., Marci A., Pflugfelder S.C.: Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42: 2283-2292.
5. Ohashi Y., Ishida R., Kojima T., Goto E., Matsumoto Y., Watanabe K., Ishida N., Nakata K., Takeuchi T., Tsubota K.: Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. Am J Ophthalmol 2003; 136: 291-299.
6. Jacob J., Ham B.: Compositional profiling and biomarker identification of the tear film. Ocular Surface 2008; 6: 175-185.
7. Berta A.: Könnyfehérjék kvantitatív meghatározása poliakrilamid-gél elektroforézissel. Szemészet 1983; 120: 195-200.
8. Lema I., Duran J.A.: Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. Ophthalmology 2005; 112: 654-659.

9. Sack R.A., Conradi L., Krumholz D., Beaton A., Sathe S., Morris C.: Membrane array characterization of 80 chemokines, cytokines, and growth factors in open- and closed-eye tears: Angiogenin and other defense system constituents. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 45: 1228-1238.
10. Coyle P.K., Sibony P.A., Johnson C.: Electrophoresis combined with immunologic identification of human tear proteins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1872-1878.
11. Tervo T., Virtanen T., Honkanen N., Härkönen M., Tarkkanen A.: Tear fluid plasmin activity after excimer laser photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 3045-3050.
12. Becker J., Salla S., Dohmen U., Redbrake C., Reim M.: Explorative study of interleukin levels in the human cornea. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 766-771.
13. Fukuda M., Fullard R.J., Willcox M.D.P., Baleriola-Lucas C., Bestawros F., Sweeny D, Holden B.A.: Fibronectin in the tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 459-467.
14. Pflugfelder S.C., Jones D., Ji Z., Afonso A., Monroy D.: Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999; 19: 201-211.
15. Thakur A., Willcox M.D.P.: Contact lens wear alters the production of certain inflammatory mediators in tears. *Exp Eye Res* 2000; 70: 255-259.
16. Grus F.H., Sabuncuo P., Dick H.B., Augustin A.J., Pfeiffer N.: Changes in the tear proteins of diabetic patients. *BMC Ophthalmology* 2002; 2: 4-9.

17. Füst Á., Veres A., Kizsel P., Nagy Z.Z., Cervenak L., Csákány B., Maka E., Süveges I., Grus F.H.: Changes in tear protein pattern after photorefractive keratectomy. *Eur J Ophthalmol* 2003; 13: 525-531.
18. Acera A., Rocha G., Vecino E., Lema I., Durán J.A.: Inflammatory markers in the tears of patients with ocular surface disease. *Ophthalmic Res* 2008; 40: 315-321.
19. Klinikai immunológia (egyetemi tankönyv). Szerkesztette: Petrányi Győző, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2000. 53-93 oldal (1.4. Immunpatológia: Petrányi Győző); 134 oldal (1.7. Immunológiai alapfogalmak, kifejezések: Erdei Anna, Falus András); 761-764 oldal (9.6. Cornea transzplantáció: Hatvani István, Petrányi Győző); 882-891 oldal (12.6. Áramlási citometria alkalmazása a klinikai immunológiai laboratóriumi gyakorlatban: ifj. Gergely Lajos, Gyimesi Edit, Antal-Szalmás Péter).
20. Immunbiológia (egyetemi tankönyv). Szerkesztette: Gergely János és Erdei Anna, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2000. 141-158 oldal (8. Citokinek és citokinreceptorok: László Glória, Erdei Anna); 358-369 oldal (17. A transzplantációs immunológia alapjai: László Glória, Rajnavölgyi Éva).
21. Sonoda S., Uchino E., Nakao K., Sakamoto T.: Inflammatory cytokine of basal and reflex tears analysed by multicytokine assay. *Br J Ophthalmol* 2006; 90: 120-122.
22. Torres P.F., Kijlstra A.: The role of cytokines in corneal immunopathology. *Ocular Immunol Inflamm* 2001; 9: 9-24.

23. Nakamura Y., Sotozono C., Kinoshita S.: Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res* 1998; 17: 673-676.
24. Uchino E., Sonoda S., Kinukawa N., Sakamoto T.: Alteration pattern of tear cytokines during the course of a day: Diurnal rhythm analyzed by multicytokine assay. *Cytokine* 2006; 33: 36-40.
25. Cubitt C, Lausch RN, Oakes JE: Differences in interleukin-6 gene expression between cultured human corneal epithelial cells and keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 330-336.
26. Thomas J., Kanangat S., Rouse B.T.: Herpes simplex virus replication-induced expression of chemokines and proinflammatory cytokines in the eye: implications in herpes stromal keratitis. *J Interferon Cytokine Res* 1998; 18: 681-690.
27. Hoekzema R., Murray P.I., van Haren M.A.C., Helle M., Kijlstra A.: Analysis of interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 88-95.
28. Malecaze F., Simorre V., Chollet P., Tack J.L., Muraine M., Le Guellec D., Vita N., Arne J.L., Darbon J.M.: Interleukin-6 in tear fluid after photorefractive keratectomy and its effects on keratocytes in culture. *Cornea* 1997; 16(5): 580-587.
29. Barton K., Monroy D.C., Nava A., Pflugfelder S.C.: Inflammatory cytokines in the tears of patients with ocular rosacea. *Ophthalmology* 1997; 104: 1868-1874.

30. Thakur A., Willcox M.D.P.: Cytokine and lipid inflammatory mediator profile of human tears during contact lens associated inflammatory diseases. *Exp Eye Res* 1998; 67: 9-19.
31. Tishler M., Yaron I., Geyer O., Shirazi I., Naftaliev E.: Elevated tear interleukin-6 levels in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1998; 105: 2327-2329.
32. Leonardi A., Borghesan F., DePaoli M., Plebani M., Secchi A.G.: Procollagens and inflammatory cytokine concentrations in tarsal and limbal vernal keratoconjunctivitis. *Exp Eye Res* 1998; 67: 105-112.
33. Pleyer U, Dannowski H, Volk H-D, Ritter T.: Corneal allograft rejection: current understanding. *Ophthalmologica* 2001; 215: 254-262.
34. Reinhard T., Böcking A., Pomjanski N., Sundmacher R.: Immune cells in the anterior chamber of patients with immune reactions after penetrating keratoplasty. *Cornea* 2002; 21: 56-61.
35. Maier P., Broszinski A., Heizmann U., Reinhard T.: Decreased active TGF-beta2 levels in the aqueous humour during immune reactions following penetrating keratoplasty. *Eye* 2008; 22: 569-575.
36. Niederkorn J.Y., Peeler J.S., Mellon J.: Phagocytosis of particulate antigens by corneal epithelial cells stimulates interleukin-1 secretion and migration of Langerhans cells into the central cornea. *Reg Immunol* 1989; 2: 83-90.
37. Dana M..R, Dai R., Zhu S., Yamada J., Streilein J.W.: Interleukin-1 receptor antagonist suppresses Langerhans cell activity and promotes ocular immune privilege. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 70-77.

38. King W.J., Comer R.M., Hudde T., Larkin D.F.P., George A.J.T.: Cytokine and chemokine expression kinetics after corneal transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 1225-1233.
39. Reinhard T., Bönig H., Mayweg S., Böhringer D., Göbel U., Sundmacher R.: Soluble Fas ligand and transforming growth factor β in the aqueous humor of patients with endothelial immune reactions after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 1630-1635.
40. Niederkorn J.Y., Mayhew E., Mellon J., Hedge S.: Role of tumor necrosis factor receptor expression in anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) and corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2674-2681.
41. Funding M., Vorum H., Nexø E., Moestrup S.K., Ehlers N., Møller H.J.: Soluble CD163 and interleukin-6 are increased in aqueous humour from patients with endothelial rejection of corneal grafts. *Acta Ophthalmol Scand* 2005; 83: 234-239.
42. Berta A.: A könnyvizsgálatok jelentősége a keratoplasticát követő immunológiai reakció előjelzésében. *Szemészet* 1985; 122: 172-177.
43. Mohan M., Sachdev M.S., Jaffery N.F.: Tear and serum immunoglobulins during corneal graft rejection. *Cornea* 1987; 6(4), 273-280.
44. Lundh R.L., Engler R.: Tear protein analyses in 30 patients before and after penetrating keratoplasty. *Ophthalmologica* 1989; 198: 20-29.

45. Sano Y., Osawa H., Sotozono C., Kinoshita S.: Cytokine expression during orthotopic corneal allograft rejection in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1953-1957.
46. Kerényi Á., Nagy Gy., Veres A., Varga Á., Füst Á., Nagymihály A., Czumbel N., Süveges I., Füst G.: C1r-C1s-C1inhibitor (C1rs-C1inh) complex measurements in tears of patients before and after penetrating keratoplasty. *Curr Eye Res* 2002; 24: 99-104.
47. Qian Y., Hamrah P., Boisgerault F., Yamagami S., Vora S., Benichou G., Dana M.R.: Mechanisms of immunotherapeutic intervention by anti-CD154 (CD40L) antibody in high-risk corneal transplantation. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22: 1217-1225.
48. Xie L., Shi W., Guo P.: Roles of tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand in corneal transplantation. *Transplantation* 2003; 76: 1556-1559.
49. Ritter T., Yang J., Dannowski H., Vogt K., Volk H.D., Pleyer U.: Effects of interleukin-12p40 gene transfer on rat corneal allograft survival. *Transplant Immunol* 2007; 18: 101-107.
50. Niederkorn J.Y.: Immune privilege and immune regulation in the eye. *Adv Immunol* 1990; 48: 191-226. Chen R., Lowe L., Wilson J.D., Crowther E., Tzeghai K., Bishop J.E., Varro R.: Simultaneous quantification of six human cytokines in a single sample using microparticle-based flow cytometric technology. *Clin Chem* 1999; 45: 1693-1694.

51. Kuchle M., Cursiefen C., Nguyen N.X., Langenbacher A., Seitz B., Wenkel H., Martus P., Naumann G.O.H.: Risk factors for corneal allograft rejection: intermediate results of a prospective normal-risk keratoplasty study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 580-584.
52. Shi W., Gao H., Xie L., Wang S.: Sustained intraocular rapamycin delivery effectively prevents high-risk corneal allograft rejection and neovascularisation in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 3339-3344.
53. Berta A., Lampé Zs., Orosi P., Takács L., Módis L., Balázs E., Radics E.: Local immune response following corneal transplantation. *Orbit* 1997; 6: 41-48.
54. Ongkosuwito J.V., Feron E.J., van Doornik C.E., Van der Lelij A., Hoyng C.B., La Heij E.C., Kijlstra A.: Analysis of immunoregulatory cytokines in ocular fluid samples from patients with uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 2659-2665.
55. Torres P.E., De Vos A.F., van der Gaag R., Martins B., Kijlstra A.: Cytokine mRNA expression during experimental corneal allograft rejection. *Exp Eye Res* 1996; 63: 453-61.
56. Klebe S., Coster D.J., Sykes P.J., Swinburne S., Hallsworth P., Scheerlinck J.P.: Prolongation of sheep corneal allograft survival by transfer of the gene encoding ovine IL-12-p40 but not IL-4 to donor corneal endothelium. *J Immunol* 2005; 175: 2219-2226.

57. Chen H., Wang W., Xie H., Xu X., Wu J., Jiang Z., Zhang M., Zhou L., Zheng S.: A pathogenic role of IL-17 at the early stage of corneal allograft rejection. *Transpl Immunol.* 2009; 21: 155-161.
58. Ventura A.C.S., Engelmann K., Dahinden C., Böhnke M.: Endotoxins modulate the autocrine function of organ cultured donor corneas and increase the incidence of endothelial cell death. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 1093-1098.
59. Fleisher L.N., McGahan M.C., Ferrell J.B.: Rabbit pigmented ciliary epithelium produces interleukin-6 in response to inflammatory cytokines. *Exp Eye Res* 2000; 70: 271-279.
60. Ohta K., Yamagami S., Taylor A.W., Streilein J.W.: IL-6 antagonizes TGF- β and abolishes immune privilege in eyes with endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2591-2599.
61. van Gelderen B.E., van der Lelij A., Peek R., Broersma L., Treffers W.F., Ruijter J.M., van der Gaag R.: Cytokines in aqueous humor and serum before and after corneal transplantation and during rejection. *Ophthalmic Res* 2000; 32: 157-164.
62. Malecaze F., Chollet P., Cavrois E., Vita N., Arné J.L., Ferrara P.: Role of interleukin 6 in the inflammatory response after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 1681-1683.
63. Thakur A., Willcox M.D.P., Stapleton F.: The proinflammatory cytokines and arachidonic acid metabolites in human overnight tears: homeostatic mechanisms. *J Clin Immunol* 1998; 18: 61-70.

64. Schultz C., Kunert K.S.: Interleukin-6 levels in tears of contact lens wearers. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20: 309-310.
65. Sotozono C., He J., Matsumoto Y., Kita M., Imanishi J., Kinoshita S.: Cytokine expression in the alkali-burned cornea. *Curr Eye Res* 1997; 16: 670-676.
66. Rosenbaum J.T., Planck S.T., Huang X.N., Rich L., Ansel J.C.: Detection of mRNA for cytokines, intrerleukin-1 alpha and interleukin-8, in corneas from patients with pseudophakic bullous keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 2151-2155.
67. Reim M., Schrage N.F., Becker J.: Interactions between ocular surface fluid and cornea related to contact lenses. *Eur J Ophthalmol* 2001; 11: 105-115.
68. Murray P.I., Hoekzema R., van Haren M.A.C., de Hon F.D., Kijlstra A.: Aqueous humor interleukin-6 levels in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 917-920.
69. Hashida N., Ohguro N., Yamamoto S., Nakagawa Y., Tano Y.: Unusual neutrophil infiltration under the soft contact lens in a patient with Behçet's disease. *Jpn J Ophthalmol* 2003; 47: 469-472.
70. Smit E.E., Sra S.K., Grabowski L.R., Ward S.L., Trocme S.D.: Modulation of IL-8 and RANTES release in human conjunctival epithelial cells. *Cornea* 2003; 22(4): 332-337.
71. Wilson S.E., He Y.G., Weng J., Li Q., McDowall A.W., Vital M., Chwang E.L.: Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the

- interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organisation and wound healing. *Exp Eye Res* 1996; 62: 325-338.
72. Bachmann B.O., Bock F., Wiegand S.J., Maruyama K., Dana M.R., Kruse F.E., Luetjen-Drecoll E., Cursiefen C.: Promotion of graft survival by vascular endothelial growth factor a neutralization after high-risk corneal transplantation. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 71-77.
73. Leonardi A., Sathe S., Bortolotti M., Beaton A., Sack R.: Cytokines, matrix metalloproteases, angiogenic and growth factors in tears of normal subjects and vernal keratoconjunctivitis patients. *Allergy* 2009; 64: 710-717.
74. Versaluoma M., Teppo A-M., Grönhagen-Riska C., Tervo T.: Increased release of tumor necrosis factor- α in human tear fluid after excimer laser induced corneal wound. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 145-149.
75. Cook E.B., Stahl J.L., Lowe L., Chen R., Morgan E., Wilson J., Varro R., Chan A., Graziano F.M., Barney N.P.: Simultaneous measurement of six cytokines in a single sample of human tears using microparticle-based flow cytometry: allergics vs. non-allergics. *J Immunol Methods* 2001; 254: 109-118.
76. Pleyer U., Milani J.K., Ruckert D., Rieck P., Mondino B.J.: Determinations of serum tumor necrosis factor alpha in corneal allografts. *Ocul Immunol Inflamm* 1997; 5: 149-155.
77. Jimenez R., Ramírez R., Carracedo J., Agüera M., Navarro D., Santamaria R., Perez R., Del Castillo D., Aljama P.: Cytometric bead array (CBA) for the

- measurement of cytokines in urine and plasma of patients undergoing renal rejection. *Cytokine* 2005; 32: 45-50.
78. Dallman M.J.: Cytokines as mediators of organ graft rejection and tolerance. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 788-93.
79. Zhu S., Dekaris I., Duncker G., Dana R.: Early expression of proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor- α after corneal transplantation. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 661-669.
80. Yamagami S., Kawashima H., Endo H., Tsuru T, Shibui H., Kagawa Y., Hori J., Yamagami H., Isobe M.: Cytokine profiles of aqueous humor and graft in orthotopic mouse corneal transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 1504-1510.
81. Chen R., Lowe L., Wilson J.D., Crowther E., Tzeggai K., Bishop J.E., Varro R.: Simultaneous quantification of six human cytokines in a single sample using microparticle-based flow cytometric technology. *Clin Chem* 1999; 45: 1693-1694.
82. Tarnok A., Hambsch J., Chen R., Varro R.: Cytometric bead array to measure six cytokines in twenty-five microliters of serum. *Clin Chem* 2003; 49: 1000-1002.
83. Uchino E., Sonoda S., Nakao K., Sakamoto T.: Alteration of tear cytokine balance by eye closure: analysis by multicytokine assay. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244: 747-749.
84. Malvitte L., Montange T., Vejux A., Baudouin C., Bron A.M., Creuzot-Garcher C., Lizard G.: Measurement of inflammatory cytokines by

- multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 29-32.
85. Truong D.Q., Darwish A.A., Gras J., Wieërs G., Cornet A., Robert A., Mourad M., Malaise J., de Ville de Goyet J., Reding R., Latinne D.: Immunological monitoring after organ transplantation: potential role of soluble CD30 blood level measurement. *Transpl Immunol* 2007; 17: 283-287.
86. Fullard R.J., Snyder C.: Protein levels in nonstimulated and stimulated tears of normal human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 1119-1126.
87. Grus F.H., Augustin A.J., Pfeiffer N.: Analysis of the antibody repertoire in tears of dry-eye patients. *Ophthalmologica* 2001; 215: 430-434.
88. Berta A: Collection of tear samples with or without stimulation. *Am J Ophthalmol* 1983; 96: 115-116.
89. Berta A: Standardization of tear protein determination: The effects of sampling, flow rate and vascular permeability. In *The Precorneal Tear Film in Health, Disease and Contact Lens Wear*, Holly FJ, editor. Lubbock, Texas, Dry Eye Institute, 1986, p.418-435.
90. van Setten G.B.: Epidermal growth factor in human tear fluid: increased release but decreased concentrations during reflex tearing. *Curr Eye Res* 1990; 9: 79-83.
91. McGill J.I., Liakos G.M., Goulding N., Seal D.V.: Normal tear protein profiles and age-related changes. *Br J Ophthalmol* 1984; 68: 316-320.

92. Klebe S., Sykes P.J., Coster D.J., Krishnan R., Williams K.A.: Prolongation of sheep corneal allograft survival by ex vivo transfer of the gene encoding interleukin-10. *Transplantation* 2001; 71: 1214-20.
93. Gong N., Pleyer U., Volk H.D., Ritter T.: Effects of local and systemic viral interleukin-10 gene transfer on corneal allograft survival. *Gene Ther* 2007; 14: 484-90.
94. Chen B., Kapturczak M.H., Joseph R., George J.F., Campbell-Thompson M., Wasserfall C.H., Atkinson M.A., Tisher C.C., Flotte T.R., Agarwal A., Chen S.: Adeno-associated viral vector-mediated interleukin-10 prolongs allograft survival in a rat kidney transplantation model. *Am J Transplant* 2007; 7: 1112-1120.
95. Yamagami S., Hamrah P., Zhang Q., Liu Y., Huq S., Dana M.R.: Early ocular chemokine gene expression and leukocyte infiltration after high-risk corneal transplantation. *Mol Vis* 2005; 11: 632-640.
96. Liu Y., Dana M.R., Tewari V., Taylor A.W.: Immune response to intragraft antigen in draining lymph nodes after corneal transplantation is mediated by interleukin-12. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 21: 813-819.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1. Az értekezéshez felhasznált közlemények

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Bessenyei E., Kardos L., Berta A.: Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Res* 2006; 38: 182-188. ***(IF:1.01)***
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. *Szemészet* 2007; 144: 61-64.
3. **Fodor M.**, Gogolák P., Rajnavölgyi É., Berta A., Kardos L., Módis L., Facskó A.: Long-term kinetics of cytokine responses in human tears after penetrating keratoplasty. *J Interferon Cytokine Res* 2009; 29: 375-380. ***(IF:2.667)***
4. **Fodor M.**, Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Pro- és anti-inflammatorikus citokinek meghatározása perforáló keratoplasticán átesett betegek könnyéből. *Szemészet* 2009; 146: 49-52.

10.2. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségekben. Szemészet 2003; 140(S):84.
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-8 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. Szemészet 2007; 144(S): 41-42.
3. **Fodor M.**, Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. Szemészet 2009; 146(S): 29-30.

10.3. Poszterek

1. **Fodor M.**, Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Facskó A., Berta A.: Detection of interleukin-6 in human tears in various anterior segment eye conditions. 2007.06.9-12. Joint Congress of European Society of Ophthalmology and American Academy of Ophthalmology (SOE/AAO); Bécs.
2. **Fodor M.**, Nagy V., Pfliegler Gy., Tornai I., Berta A.: Hepatitis C vírus okozta kétoldali NAION esete. 2008.05.29-31. Magyar Szemorvos Társaság Kongresszusa; Pécs.
3. **Fodor M.**, Nagy V., Pfliegler Gy., Tornai I., Berta A.: Hepatitis C vírus okozta kétoldali NAION esete. 2009.04.20. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen.

10.4. Az értekezés témájához kapcsolódó előadások jegyzéke

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségeiben, 2003.08.29. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa, Cornea szekció; Budapest.
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Humán könnyvizsgálatok protein assay segítségével, 2003.11.28. Továbbképző előadás, SOTE I; Budapest.
3. **Fodor M.:** Interleukinok (IL-6, IL-8) meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségeiben, 2004.04.29. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen.
4. **Fodor M.**, Berta A.: IL-6 and IL-8 in various anterior segment eye diseases, 2004.10.15. Congress of the European Contact Lens Society of Ophthalmologists (ECLSO); Budapest.
5. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-8 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. 2007.06.23. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa; Debrecen.
6. **Fodor M.:** Könnycitokinmeghatározások a szem elülső szegmentumának betegségeiben. 2009.04.20. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen
7. **Fodor M.**, Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. 2009.06.26. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa; Budapest.

8. **Fodor M.**: Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. 2009.06.29. DEOEC A klinikai orvostudományok doktori iskola 2009. évi Ph.D. szimpóziuma. Debrecen.

10.5. Egyéb, az értekezéshez fel nem használt közlemények

1. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Németh G., Berta A.: Tapasztalataink glaucomás szemeken végzett phacoemulsificatióval. Szemészet 2003; 140:136-138.
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperatív szakban nem glaucomás betegeken. Szemészet 2003; 140: 33-35.
3. **Fodor M.**, Berta A., Módis L.: A könnyfilm-beszáradási teszt szerepe a száraz szem diagnosztikájában. Szemészet 2007; 144: 191-195.
4. Módis L., **Fodor M.**, Berta A.: A conjunctivális impressziós citológia szerepe a száraz szem diagnózisában. Szemészet 2007; 144: 171-175.
5. **Fodor M.**, Nagy V., Berta A., Tornai I., Pfliegler G.: Hepatitis C virus presumably associated consecutive anterior ischemic optic neuropathy. Eur J Ophthalmol 2008; 18: 313-315. ***(IF: 1.018)***
6. Módis L., Kettesy B., Szalai E., **Fodor M.**, Berta A.: Endothelialis keratoplasztikával szerzett tapasztalataink. Szemészet 2009; 146: 35-41.

10.6. Egyéb idézhető absztraktok

1. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Berta A.: Glaucomás betegekén végzett phacoemulsificatio során szerzett tapasztalataink. Szemészet 2002; 139(S):51.
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperativ szakban nem glaucomás betegekén. Szemészet 2002; 139(S):53.

10.7. Egyéb előadások jegyzéke

1. **Fodor M.**, Berta A., Módis L.: Morfológiai vizsgálómódszerek a szárazszeműség korszerű diagnosztikájában. 2002.01.25. Továbbképző előadás, SOTE I.; Budapest. (Pályamunka: A száraz szem magyarországi, 2004 évi kutatási pályázata: I. díj.)
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperativ szakban nem glaucomás betegekén. 2002.04.13. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.
3. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperativ szakban glaucomás betegekén. 2002.04.13. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.

4. **Fodor M.:** A száraz szem konzervatív terápiája III. A-vitamin. 2004.11.11.
Továbbképző előadás, DEOEC Szemklinika; Debrecen.
5. **Fodor M.,** Németh G., Tornai I., Szalczer L., Dinya Z., Kenyeres A., Felszeghy Sz., Újvári T., Módis L., Berta A., Facskó A.: PCL csere transzparencia csökkenés miatt. 2008.03.28. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.
6. **Fodor M.:** A ROP etiopathogenesise és terápiás lehetőségei. 2008.10.18.
Továbbképző előadás, DEOEC Szemklinika; Debrecen.

11. Tárgyszavak

Tárgyszavak Könny, perforáló keratoplastica, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10,IL-12p70, transplantatum rejectio

Keywords tears, keratoplasty, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10, IL-12p70, transplant rejection

12. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Facskó Andrea Tanárnőnek, és Dr. Berta András Professor Úrnak, akik munkámat folyamatosan figyelemmel kísérték, messzemenőig támogatták és segítettek. Szeretném elengedhetetlen segítségéért és a hosszú közös munkáért köszönetemet kifejezni Dr. Rajnavölgyi Éva Professzornőnek és Dr. Gogolák Péternek, valamint az Immunológiai Intézet munkatársainak. Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni a segítséget és a türelmet a Szemklinika minden munkatársának, akik lehetővé tették, hogy a tanulmányokra megfelelő mennyiségű időt szakítsak. Szeretném megköszönni a nővéreknek és asszisztenseknek a könnygyűjtések zavartalan lefolyásában tett segítségüket. Munkámat családomnak ajánlom, akik türelemmel támogattak, és megértették, hogy a nélkülük eltöltött idő nemes célokat szolgál.

13. Bekötött publikációk

1. Fodor M., Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Bessenyei E., Kardos L., Berta A.: Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Res* 2006; 38: 182-188. **(IF:1.01)**
2. Fodor M., Gogolák P., Rajnavölgyi É., Berta A., Kardos L., Módis L., Facskó A.: Long-term kinetics of cytokine responses in human tears after penetrating keratoplasty. *J Interferon Cytokine Res* 2009; 2009; 29: 375-380. **(IF:2.667)**
3. Fodor M., Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. *Szemészet* 2007; 144: 61-64.
4. Fodor M., Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Pro- és anti-inflammatorikus citokinek meghatározása perforáló keratoplasticán átesett betegek könnyéből. *Szemészet* 2009; 146: 49-52.