

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

AZ E-SELECTIN ÉS MÁS PATHOGENETIKAI TÉNYEZŐK SZEREPE A SZEMFENÉKI VASCULARIS TÖRTÉNÉSEKBEN

Dr. Kasza Márta

Témavezető: Dr. Nagy Valéria



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

DEBRECEN, 2017.

Az E-selectin és más pathogenetikai tényezők szerepe a szemfenéki vascularis történésekben

Értekezés a (PhD) doktori fokozat megszerzése érdekében

a Klinikai Orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Kasza Márta, általános orvos, szemész szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája

„Klinikai vizsgálatok” programja keretében

Témavezető: Dr. Nagy Valéria, PhD

A doktori szigorlati bizottság tagjai:

Elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora

Vizsgáztatók: Prof. Dr. Vereb György, az MTA doktora

Dr. Tóth-Molnár Edit, PhD

A doktori szigorlat időpontja: DE ÁOK, Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet könyvtára, 2017. szeptember 29. 11 óra

Az értekezés bírálói: Dr. Bodor Miklós, PhD

Dr. Végh Mihály, kandidátus

A védési bizottság tagjai:

Elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora

Tagok: Prof. Dr. Vereb György, az MTA doktora

Dr. Bodor Miklós, PhD

Dr. Tóth-Molnár Edit, PhD

Dr. Végh Mihály, kandidátus

Az értekezés védésének időpontja: DE ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme, 2017. szeptember 29. 13 óra

1. BEVEZETÉS

A fejlett országokban a vakság leggyakoribb okai az időskori macula degeneratio, a szürkehályog, a glaucoma, valamint a diabetes mellitus (DM) okozta retinopathia. Súlyosfokú látásromlás hátterében gyakran találunk különböző szemfenéki vascularis történéseket is.

1.1. Szemfenéki vascularis történések

A szemfenéki vascularis történések közé tartozik az occlusio venae centralis retinae (RVO), melynek két típusát különböztetjük meg: törzs-thrombosis (az angol irodalomban: central retinal vein occlusion - CRVO), illetve ág-thrombosis (branch retinal vein occlusion - BRVO), az occlusio arteriae centralis retinae, valamint a Non-arteritises Anterior Ischaemiás Opticus Neuropathia (NAION). A kórképek multifaktoriális megbetegedések. Kialakulásukban jelentős szerepet játszhatnak a cardiovascularis megbetegedések, mint például a hypertonia (HT), az ischaemiás szívbetegség (ISZB), az atherosclerosis, a DM, a hyperlipidaemia, valamint a dohányzás is.

1.1.1. Retinalis vénás elzáródás (RVO)

Az RVO érintheti az egész véna törzset (CRVO), illetve egyes ágakat (BRVO). Az elzáródás az artériás keringés jelentős elégtelenségével is járhat, így megkülönböztethetünk ischaemiás-, illetve nem ischaemiás vénás elzáródást. A szemfenéki thrombosis kialakulásában a Virchow-triász játszhat szerepet: a stasis, általában a lamina cribrosa magasságában történő érfali károsodás (arteriolosclerosis), valamint a fokozott véralvadási készség thrombosis következménye lehet.

Tünetei közé tartozik a viszonylag lassú látásromlás (gyakran 1-2 hét alatt), a relativ afferens pupillaris reflex defektus, a látótér kiesések, és a jellegzetes fundus elváltozások. A

fundus kép diagnosztikus értékű. A keringésromlás következtében papilla- és macula oedema is kialakulhat. A későbbiekben szövődményként érújdonképződések alakulhatnak ki, kezeletlen, ischaemiás típusban neovascularisatio, secunder glaucoma is jelentkezhet.

1.1.2. Vascularis Endothelialis Növekedési Faktor (VEGF)

Az érújdonképződések kialakulását, növekedését, az újonnan képződött erek permeabilitását bonyolult biokémiai mechanizmus szabályozza. Ebben kulcsszerepet játszik a vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF), mely a növekedési faktorok családjába tartozik. Számos isomerje ismert, szemészeti szempontból legnagyobb szerepe az VEGF-A csoportba tartozó a VEGF 121 és VEGF 165 isomernek van. Szintjük emelkedése, melyet pl. a hypoxia, érelzáródás indukálhat, potenciálisan növeli az erek permeabilitását, ezáltal macula oedemát képesek kialakítani, így súlyos, gyakran irreverzibilis látásromlás alakulhat ki.

1.2. DM következtében kialakuló diabeteses retinopathiák

A DM angiopathia talaján kialakuló szemészeti tünetek sok esetben már néhány év után is megjelenhetnek. Idővel egyre több betegen alakul ki DM retinopathia. A vércukor szintje kulcsfontosságú rizikófaktor a retinopathia kialakulásában. A DM retinopathia súlyossága, a szemfenéki kép, visus és egyéb rizikófaktorok alapján, az American Academy of Ophthalmology (AAO) ajánlása szerint, több stádiumra osztható: az első csoportban lévő betegeknél szemfenéki eltérés nem látható. A következő csoportba tartozó non-proliferatív diabeteses retinopathiás betegeken belül (NPDR) 3 alcsoportot különböztetnek meg a súlyosság szerint (enyhe, közepesen súlyos, valamint súlyos NPDR), illetve az utolsó csoportba a proliferatív diabeteses retinopathiás (PDR) betegek kerültek. A proliferatív csoporton belül megkülönböztetünk üvegtesti vérzést, és neovascularisatiós csoportot.

A DM retinopathia megjelenhet a diabetes diagnózisát követően viszonylag korán,

illetve több évvel később is. A DM retinopathia kialakulásában fő szerepet játszik a DM fennállási időtartama, valamint a vércukor szintje.

Az adhaesiós molekulák szintjének a növekedése a retinalis érrendszerben befolyásolhatja a DM retinopathia kialakulását, melyet az endotheliumhoz való macrophag és leukocytá adhaesio, valamint az ezáltal kialakult capillaris oclusio és retinalis ischaemia okoz. Az érújdonképződés a nagy kiterjedésű, chronicus ischaemiás területekkel függ össze, illetve az innen felszabaduló vasoactiv anyagok (pl.: VEGF) hatására alakul ki. Éppen ezért, DM betegeknél az adhaesiós molekulák emelkedett szintjének szerepe lehet a DM retinopathia kialakulásában.

1.2.1. A solublis E-selectin (sE-sel)

A selectinek az adhaesiós molekulák családjába tartoznak, melyek szöveti károsodáskor, valamint gyulladásos folyamatok során az endothel sejtek és a leukocyták közötti adhaesio kialakításában, erősítésében vesznek részt. A selectineket 3 különböző sejt felszínén találhatjuk meg: az L-selectineket a leukocytákon, a P-selectineket a thrombocytákon, míg az E-selectineket a vascularis endothelium felszínén. Minden selectin egy egyedülálló és karakterisztikus extracelluláris régióval rendelkezik, ami egy calcium dependens lectin domént, egy epidermalis növekedési factor-szerű domént, valamint egy rövid ismétlődő-, és egy transmembran domént tartalmaz.

A selectinek szintje gyorsan és erőteljesen megemelkedik különböző gyulladásos mediátorok hatására, mint pl.: interleukin-1 β , Tumor-Necrosis-Factor- α , Interferon- γ , substance P.

Az endothel dysfunkció DM esetén jól ismert tény. Számos tanulmány beszámolt már arról, hogy a cirkuláló adhaesiós molekulák szintje, valamint a sE-sel szint megemelkedik DM betegeknél. Szintjük korrelációt mutatott a DM macro-, microangiopathia, és

neurophathia kialakulásával is.

Magasabb sE-sel szintről számoltak még be dyslipidaemiában, atherosclerosisban, elhízás és dohányzás esetén is. A sE-sel magasabb serum koncentrációja a cardiovascularis és cerebrovascularis megbetegedések (myocardialis infarctus, angina pectoris, hirtelen szívhalál, stroke) növekedéséhez vezethet.

2. CÉLKITŰZÉS

2.1. VEGF szint meghatározása RVO-s betegek könnymintáiból

2.1.1. Célunk volt, hogy egy non-invazív, olcsó, gyorsan és egyszerűen kivitelezhető vizsgálat, a könny-mintavétel, segítségével kimutassuk a CRVO-ban, illetve BRVO-ban szenvedő betegek könnyében megjelenő VEGF-et, valamint meghatározzuk a VEGF-ek szintjét is.

2.1.2. RVO betegeknél ne csak a könnymintákban, hanem vérplasmában is megmérjük a betegség kialakulásakor megjelenő VEGF szinteket.

2.1.3. A könny VEGF szintek mérésével követtük az RVO következtében kialakult macula oedema nagyságát, és időbeni változásait (növekedését, csökkenését). Megfigyeltük a macula oedema RVO lefolyásával párhuzamos változásának mértékét.

2.1.4. Arra kerestünk választ, hogy a könny VEGF szintek és a macula oedema mértéke között van-e összefüggés.

2.2. sE-sel szintek mérése DM betegek esetében

2.2.1. Mértük a DM betegek plasmájában a sE-sel szinteket, azzal a céllal, hogy igazoljuk ezek emelkedett voltát.

2.2.2. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a fenti tényezőnek lehet-e pathogenetikai szerepe a DM retinopathia kialakulásában.

2.2.3. Vizsgáltuk, hogy a sE-sel szintnek van – e szerepe a DM retinopathia súlyosságának befolyásolásában.

2.2.4. Mértük a betegek haemoglobin-A1C (HbA1C) szintjét, valamint elemeztük az ezzel kapcsolatosan észlelt összefüggéseket is.

2.2.5. Összefüggést kerestünk a DM fennállási ideje és a HbA1C értékek, valamint az egyéb cardiovascularis rizikótényezők között is.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Betegek

Vizsgálatainkat a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinika ambulanciáján végeztünk. A betegek kiválasztása az aktuális szakmai irányelveknek megfelelően történt, a személyek beválogatása során minden olyan szemészeti vagy belgyógyászati kórot kizártunk, melyek vizsgálatainkat bizonyítottan, vagy feltételezhetően befolyásolhatták volna. Tanulmányainkat a Debreceni Egyetem Orvos-, és Egészségtudományi Centrum Regionális és Intézeti Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá, azokat az 1989 Helsinki Declaráció normáinak megfelelően végeztük, a betegek tájékoztatott beleegyezésével (RKEB/IKEB 3763-2013).

3.1.1. RVO-s betegek

Vizsgálatainkat egyrészt 2013. és 2014. között a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinika ambulanciáján végeztünk, ahol 15 betegnél diagnosztizáltunk RVO-t. Vizsgálatunkban 8 beteget (3 nő, 5 férfi) vizsgáltunk, 3 betegnél CRVO-t (1 nő, 2 férfi), 5 betegnél BRVO-t (2 nő, 3 férfi) diagnosztizáltunk. Betegeink átlagéletkora $70,37 \pm 5,24$ év volt, a legfiatalabb 61, a legidősebb 83 éves volt. A kontroll csoportba 5 olyan egyént vizsgáltunk, akiknek semmilyen szemészeti megbetegedése nem volt. Közülük 1 nő, és 4 férfi, kiknek átlagéletkora $63,60 \pm 16,24$ év volt, a legfiatalabb 39, a legidősebb 84 éves volt. Betegeink demográfiai adatait, a kísérőbetegségeket Mann-Whitney U teszt, valamint Fisher exact teszt segítségével elemeztük.

2 betegünk a panaszok jelentkezését követően 24 h-n belül jelentkezett vizsgálatra, 2 beteg 1 hét múlva, 1 beteg 2 hét múlva, míg 3 beteg pedig 3 hét múlva jött az első vizsgálatra.

3.1.2. DM betegek

Betegeinket másrészt 2014-2015-ben a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinika ambulanciáján megjelenő 102 DM-ban szenvedő beteg közül választottuk ki.

Vizsgálatunkba 57 DM beteg került, közöttük 37 nő, valamint 20 férfi szerepelt, átlagéletkoruk: $61,71 \pm 12,31$ év volt. A fundus eltérések alapján 3 csoportot készítettünk, mindhárom csoportba 19 beteg került. Az „A” csoportba azon ismert 19 DM beteg került (12 nő, 7 férfi; átlagéletkor: $64,45 \pm 10,36$ év), akiknél fundus eltérés nem volt látható, 2 betegnél DM1, míg 17 betegnél DM2 állt fenn. A „B” csoportba került 19 betegen (13 nő, 6 férfi; átlagéletkor: $64,05 \pm 12,42$ év), a NPDR tünetei már kialakultak, 8 betegnél DM1, míg 11 betegnél DM2 állt fenn. A „C” csoportba 19 PDR beteg került (12 nő, 7 férfi; átlagéletkor: $56,65 \pm 12,99$ év), mindenki DM1-ben szenvedett. A kontroll csoportban 14 egészséges egyént (10 nő, 4 férfi; átlagéletkor: $63,06 \pm 10,46$ év) vizsgáltunk.

3.2. Az alkalmazott vizsgálatok

Minden betegnél teljes körű szemészeti vizsgálatot végeztünk, melyek: a legjobban korrigált látásélesség, réslámpa vizsgálatot, applanációs szemnyomás mérést, tágított pupillás fundus vizsgálatot. Minden betegnek Zeiss FF450+IR kamerával fundusfotót és szükség esetén fluoreszcein angiographia vizsgálatot is készítettünk. RVO-s betegeinknél OCT vizsgálatot is végeztünk (Spectralis OCT).

3.2.1. RVO-s betegek vizsgálatai

A betegek ambulancián való első jelentkezésekor (V1) vizsgáltuk a plasma és a könny VEGF szinteket. 1 hét (V2), illetve 4 hét múlva (V3) minden betegünkönél megismételtük a könny VEGF mérését.

3.2.2. DM-s betegek vizsgálatai

Minden betegnél részletes anamnesis felvételét követően rögzítettük a DM fennállásának idejét, típusát, a kísérőbetegségeket (ISZB, HT, hypercholesterinaemia (HC)), az alkalmazott gyógyszereik adatait. A DM retinopathia osztályozásához alapul vettük AAO 2012-es beosztás ajánlását. A retinopathia stádium beosztásának ellenőrzését két egymástól független, tapasztalt szakorvos végezte (maszkolt), fundus vizsgálat, fundusfotó és fluoreszcein angiographia segítségével. Az egybehangzó klasszifikációt fogadtuk el.

3.3. Laboratóriumi módszerek

3.3.1 RVO-s betegek könnyminta vétele

A betegek réslámpás vizsgálata, valamint a könny-mintavétele között legalább 1 órát vártunk. A könny-mintavétel stimuláció nélkül, steril üveg kapilláris tubus (átmérője standard módon 1mm) segítségével történt, az alsó könny meniscusból, a külső canthus közeléből, anélkül, hogy a szemhéjszélt, a corneát, vagy a conjunctivát érintettük volna. A mintavételt minden esetben ugyanaz a személy végezte. A könny mintavétel ideje 2 percig tartott, majd megmértük a 2 perc alatt levett kapillárisban lévő könnyhenger hosszát mm-ben kifejezve. Ezt követően meghatároztuk, hogy 2 perc alatt hány μ l könny mintát sikerült gyűjtenünk. A könnymintát 1800 fordulat/10 perc centrifugálást követően, a felhasználásig Complete Ultra Mini proteáz inhibitorral (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) -70°C -on tároltuk.

3.3.2. A VEGF szintek meghatározása

A VEGF szintek meghatározására Human VEGF Quantikine® ELISA kit-et (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) használtuk. A minták tárolását felhasználás előtt szobahőmérsékletűre melegítettük. A plasma mintákat direkt módon mértük. A könny

mintákat pedig hígítottuk. Hígításra Calibrator Diluent RD5K oldatot használtunk, melyet a kit tartalmazott. Mintáinkat 200 µl –re hígítottuk a kis volumen miatt.

3.3.3. DM betegek laboratóriumi vizsgálatai

Minden vizsgált beteg esetében rutin labor vizsgálatok és HbA1C analízisek történtek. A vérminták a középső könyök vénából kerültek levételre, 21G-s méretű tű felhasználásával 0,105 M-os Na-citrátot tartalmazó Vacutainer csövekbe (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA), minimális vénás stasis mellett.

A szérum glükóz szintek egy Cobas analizátoron (Roche, Mannheim, Németország) kerültek lemérésre. A HbA1C értékeket pedig kromatográfiás (HPLC) technikával (BioRad, Hercules, CA, USA) határoztuk meg.

A sE-sel plasma szinteket a kereskedelmi forgalomban elérhető ELISA kitek (R&D Systems, Minneapolis, MN) segítségével határoztuk meg, követve a gyártó utasításait. Minden plasma mintát a vérvétel után azonnal lecentrifugáltuk (2000 G, 15 perc, szobahő), majd a plasmát elkülönítettük, és az analízisig a mintákat -70°C-on tároltuk.

3.4. Statisztikai módszerek

3.4.1. Statisztikai módszerek RVO-s betegek esetében

A statisztikai analízist az SPSS szoftver 22-es verziójának (IBM Corp., Armonk, NY, USA) segítségével végeztük el. Elemzéseink során kétmintás t próbát, valamint Pearson korrelációs analízist alkalmaztunk. Eredményeinket $p < 0.05$ alatt tekintettük szignifikánsnak.

3.4.2. Statisztikai módszerek DM-s betegek esetében

A statisztika analízist a Windows SPSS (Version 22.0), a MedCalc (Version 14.8.1) statisztikai programjával végeztük. Az adatok normalitás vizsgálatára a Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztuk. A nem normális eloszlású adatok elemzését non-parametrikus tesztekkel végeztük. A folyamatos változókat átlagértékekben, és 95%-os fiducia intervallumokkal elemeztük. Két-két folyamatos változó összehasonlítására a Mann-Whitney U tesztet, a nem folyamatos változók elemzésére a Fisher exact tesztet alkalmaztuk. A nem folyamatos változók esetén a chi-négyzet tesztet, a folyamatos változók esetén pedig a Kruskal-Wallis analízist használtuk. Korrelációs analízisre a Spearman analízis tesztet használtuk. Az értékeket $p < 0.05$ alatt tekintettük szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. RVO-s betegek eredményei

Az RVO-s betegek study szem könnymintájában mérhető VEGF szintek értékei, kétmintás t próbával (paired t teszt) szignifikánsan magasabbak voltak, mint a másik szem, ugyanilyen mért értékei mindhárom visit alkalmával ($p_1=0,01$, $p_2=0,02$, $p_3=0,006$).

Az RVO-s betegek, study szemén mért, kiindulási (V1.) könny VEGF szintet összehasonlítva az első hét utáni (V2. $p_{1-2}=0,023$), és a negyedik hét utáni szintekkel, szignifikánsan magasabbak értékeket találtunk (V3. $p_{1-3}=0,050$). Ha a V2. ill. a V3. időpontban mért értékeket hasonlítottuk össze, akkor az eltérés kismértékű volt, és nem volt szignifikáns ($p_{2-3}=0,874$). A vizsgált RVO-s betegek másik szem, könny VEGF szintjeiben is hasonló tendencia figyelhető meg, bár statisztikailag szignifikáns különbséget csak az V1. és a V2. között mért VEGF szintek tekintetében figyelhetünk meg ($p_{1-2}=0,038$). A V1. és a V3., ill. a V2. és a V3. során mért és vizsgált értékek közötti különbség, azonban nem volt szignifikáns. ($p_{1-3}=0,113$, $p_{2-3}=0,596$)

Mindhárom vizsgálati időpontban történt OCT vizsgálat, melynek során megmértük a CRT-t. Kétmintás t-próbával a V1. és V2. során nyert eredmények szignifikánsan különböztek egymástól ($p_{1-2}=0,01$), míg az V1.-V3. és a V2.-V3. talált eltérések nem voltak szignifikánsak ($p_{1-3}=0,57$, $p_{2-3}=0,11$).

V1. alkalmával a betegek és a kontroll csoport tagjainak a plasmájában is megmértük a VEGF szinteket. Kétmintás t próba segítségével a betegek plasma VEGF szintje a betegség tüneteinek kialakulásakor (V1) szignifikánsan magasabb volt, a kontroll csoport tagjaihoz képest ($p=0,0001$).

V1. alkalmával korrelációt találtunk a plasma és az RVO-s szem könny VEGF szintjei között ($r=0,33$, $p<0,05$). Korreláció áll fenn a beteg másik szemének könnyében mért VEGF szint, és a plasma VEGF szintje között is ($r=0,21$, $p<0,05$).

Vizsgáltuk az RVO-s szem könnyben mért VEGF szintjeinek, és az OCT vizsgálat CRT értékeinek időbeli lefolyását, ill. egymáshoz való viszonyát is. Az eltérés statisztikailag nem volt szignifikáns.

4.2. DM betegek plasma sE-sel szintjei a DM retinopathia különböző stádiumaiban

Mann-Whitney U teszt segítségével a nemek és a kor tekintetében a vizsgált csoportok (a DM csoport betegek és a kontroll tagjai) homogének voltak ($p=0,64$ / $p=0,86$).

A DM-os betegek sE-sel szintje szignifikánsan magasabb volt, valamint a kontroll betegek sE-sel szintje ($p=0,03$). Ugyanilyen eltérés igazolódott az összes DM és a kontrollok HbA1C értékei között is. Az eltérés kifejezetten szignifikáns volt ($p<0,0001$).

A DM fennállási ideje és a DM retinopathia kialakulása között erőteljes szignifikáns eltérést találtunk ($p<0,0001$).

Fisher's exact teszt analízis során szignifikáns eltérés volt a HT ($p<0,0001$) és az ISZB ($p=0,007$) tekintetében is az összes DM beteg eseteiben a kontroll csoporthoz képest. A HC esetében ilyen eltérés nem igazolódott ($p=0,84$).

Tovább elemezve a DM betegeket alcsoportok szerint, a következőket találtuk: a sE-sel átlagértéke a kontroll csoportban 26,55 ng/mL (20,40-33,22 ng/mL 95% CI), az „A” csoport tagjain 31,6 ng/mL (25,81-36,50 ng/mL 95% CI), a „B” csoportban 36,90 ng/mL (27,00-47,80 ng/mL 95% CI), a „C” csoportban 32,60 ng/mL (25,05-39,19 ng/mL 95% CI) volt.

Az egyes alcsoportok közötti különbség statisztikailag nem volt szignifikáns, bár az

értékekben emelkedő tendencia volt megfigyelhető.

A sE-sel szintek értékeit úgy is megvizsgáltuk, hogy két csoportot alkottunk: azon betegekből képeztünk egy csoportot, akiknél még nem alakult ki DM retinopathia (kontroll egyének, és az „A” csoport tagjai), és azon DM betegekből egy másik csoportot, akiknél már a DM retinopathia különböző súlyosságban megjelent („B” és „C” csoport betegei). Ha a két csoport sE-sel szintjeit statisztikailag összevetettük, akkor szignifikánsan eltérést találtunk a két csoport adatai között ($p < 0,05$).

4.2.3. Statisztikai elemzés a DM alcsoportokban

Adatainkat statisztikai szempontból tovább elemeztük Spearman korrelációs teszttel az egyes DM alcsoportokban („A”, „B”, „C” csoport).

Az „A” csoport tagjain megfigyelhettük, hogy a sE-sel-, valamint a HbA1C szintek a DM fennállási idejének függvényében magasabb lett, bár Spearmann korrelációval nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést ($r=0,39$, $p=0,10$, és $r=0,31$, $p=0,18$).

Az eredményeket tovább elemezve azt találtuk, hogy szignifikáns, negatív korreláció áll fenn a sE-sel szint és a HC között ($r=-0,48$, $p=0,04$). A sE-sel szintek nem korreláltak sem a HT-val ($r=0,04$, $p=0,86$), sem az ISZB-vel ($r=0,38$, $p=0,11$).

Az „A” csoportban a DM fennállási ideje és az ISZB között szignifikáns pozitív korreláció áll fenn ($r=0,55$, $p < 0,01$), azonban hasonló korreláció nem igazolódott a DM fennállási ideje és a HT, valamint a HC között ($r=0,21$, $p=0,40$ / $r=-0,4$, $p=0,09$).

A „B” csoportban a korreláció nem volt statisztikailag szignifikáns a sE-sel szint és a DM fennállási időtartama között ($r=0,16$, $p=0,50$), valamint a HbA1C szintje között sem ($r=0,14$, $p=0,55$). Szignifikáns pozitív korreláció igazolódott a HC és az ISZB tekintetében ($r=0,80$, $p < 0,0001$).

A korreláció nem volt statisztikailag szignifikáns a DM fennállási időtartama és a HT,

HC és az ISZB között sem ($r=0,38$, $p=0,10$; $r=-0,30$, $p=0,21$; $r=0,01$, $p=0,96$).

És végül a „C” csoportban statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk a HC és az ISZB között ($r=0,45$, $p=0,05$).

A korreláció nem volt statisztikailag szignifikáns a sE-sel szint és a DM fennállási időtartama között ($r=-0,27$, $p=0,25$) valamint a HbA1C szintekkel sem ($r=-0,03$, $p=0,88$).

A korreláció szintén nem volt statisztikailag szignifikáns a sE-sel szint és a HT, az ISZB, és a HC között sem.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. RVO-s betegek könnyében mért VEGF szintek

Az emelkedett VEGF szinteknek a klinikumban szerepet tulajdonítanak több patológiás megbetegedés, mint pl. a szívelégtelenség, az atherosclerosis, ISZB, ischaemias stroke kialakulásában. Gyakran társul magas VEGF szint különböző gyulladásos megbetegedésekhez, arthritishez, és daganatos betegségekhez. Mysliwiec és mtsai. szignifikánsan magasabb serum HbA1C, és VEGF szintet mértek DM retinopathiás betegekben, mint azoknál, akiknél nem fordult elő szemfenéki eltérés. Szemészeti megbetegedésekben, mint pl. cornealis neovascularizatio esetén, vagy refraktív műtétes beavatkozásokat követően is magasabb könny VEGF szint igazolódott.

RVO esetén korábbi vizsgálatok már igazolták a csarnokvíz és az üvegtest emelkedett VEGF szintjét. Más szerzők az üvegtest VEGF szintjét mérték BRVO, és CRVO esetén, ahol szignifikánsan magasabb VEGF szintet találtak, mint a kontroll csoportban. Azt találták, hogy ez összefüggésben állhat a kialakult macula oedemával is. Továbbá igazolták, hogy az üvegtesti VEGF szint szignifikánsan magasabb ischaemiás BRVO/CRVO-s betegekben, mint a non-ischaemiás típusban. BRVO-s és CRVO-s betegeknél a VEGF üvegtesti szintje szignifikánsan korrelált a macula oedema mértékével. Boyd és mtsai. ischaemiás CRVO esetén összefüggést találtak a csarnokvíz VEGF szintje, és az iris neovascularisatio (INV) mértéke között.

Tudomásunk szerint elsőként határoztunk meg RVO-s betegeken könny VEGF értékeket.

Pilot study-nkban 8 RVO-s beteg könnyét, és plasmáját vizsgáltuk. Azt találtuk, hogy minden vizsgálati időpontban (V1, V2 és V3) az RVO-s szemen mért könny VEGF szint

magasabb volt a másik szemhez képest. Hasonló változásokat találtunk mind a BRVO, mind a CRVO esetén. Az alacsony esetszám miatt, azonban alcsoportokat nem képeztünk az RVO-s betegek körében.

Study-nk során a könny VEGF szintek összefüggést mutattak a macula oedema mértékével, a CRT-vel is, melyet OCT segítségével határoztunk meg. Vizsgálati eredményeink hasonlóak más szerzők által közölt eredményekkel, akik korrelációt igazoltak a csarnokvízben lévő-, és az üvegtesti VEGF szint emelkedés, valamint és az RVO-s betegek CRT értékei között. Noma és mtsai. eredményeik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a csarnokvíz és az üvegtest VEGF szintek és a macula oedema súlyossága között összefüggés lehet CRVO-ban. Más szerzők ugyanilyen összefüggést igazoltak BRVO-s betegeken is.

A mi méréseink hasonló összefüggést igazoltak a könny VEGF szintje és a CRT értékek között. A fentiek alapján, összefüggés lehet az RVO következtében kialakult hypoxia indukálta VEGF szint növekedés és a macula oedema mértéke között.

Két betegünk esetében (3. és 7. beteg), akik a tünetek kialakulása után jelentkeztek, azt tapasztaltunk, hogy a kezdeti VEGF szintek viszonylag alacsonyak voltak, majd emelkedtek. Mindkét esetben a V1 alkalmával a könny VEGF szintek relative alacsonyak voltak, majd idővel növekedtek. A V2 alkalmával egy közepesen magas, majd a V3-nál magasabb szintet mutattak. A többi beteg esetében, akik a tünetek kialakulását követően később jelentkeztek ambulanciánkon (V1), a V2. során magasabb könny VEGF szintet találtunk, majd a V3. -re enyhe csökkenés volt látható.

A macula oedema mértéke, az OCT-vel mérhető CRT értékek először növekedtek (V2), majd kismértékben csökkentek. Kivétel ez alól a 7. beteg, akinek a CRT értékei fokozatosan növekedtek a három visit alkalmával. Ez azzal állhat összefüggésben, hogy a 7. beteg az RVO tünetetinek kialakulása után rövid időn belül jelentkezett klinikánkon.

5.2. DM betegek plasma sE-sel, sP-sel, P-sel szintjei és a diabeteses retinopathia súlyossága közötti összefüggés

Számos tanulmány igazolta, hogy a solubilis adhaesiós molekulák szintje DM betegek estében emelkedett. A megemelkedett adhaesiós molekula szint fontos szerepet játszik a DM micro-, macroangiopathia, valamint a DM retinopathia kialakulásában is. Korábban több szerző közölte, hogy a DM betegek üvegtestjében az adhaesiós molekulák szintje megemelkedhet.

A DM retinopathia gyakran társul capillaris occlusióval, melyet microvascularis thrombusok okoznak, amit vörösvérsejtek, thrombocyták, leukocyták alkotnak. A thrombocyták fontos szerepet játszanak az érelzáródások kialakulásában.

Munkánk során vizsgáltuk DM betegek körében a sE-sel szintek változását a DM fennállási idejének, a HbA1C szinteknek, a retinopathia súlyosságának a függvényében, valamint a társbetegségekkel való kapcsolatát, mint pl. HT, ISZB és HC.

A HbA1C szint szignifikánsan magasabb volt a DM csoportban. Az ISZB és a HT szignifikánsan magasabban fordult elő a DM betegek körében, mint a kontroll csoportban. A DM fennállási ideje szignifikánsan korrelált a retinopathia kialakulásával, és annak stádiumával.

Magasabb sE-sel szintet találtunk a DM betegek plasmájában, mint a kontroll csoportban.

A DM alcsoportokban is magasabb volt a sE-sel szint, mint a kontroll csoportban. Ha két nagy csoportot képezünk, és az egyikbe kerül a kontroll, és azon diabeteses betegek, akiknek még nincs retinopathiája („A” csoport), a másik csoportba a NPDR, valamint PDR („B” és „C” csoport) betegeit tesszük, és összehasonlítjuk ezen két csoport sE-sel szintjeit, akkor éppen szignifikáns értékeket kapunk.

A DM fennállási időtartama, a HbA1C-, és a sE-sel szintek között nem találtunk szignifikáns korrelációt. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az emelkedett sE-sel szintek szerepet játszhatnak a DM retinopathia kialakulásában, de súlyosbodásában már kevésbé van szerepe. A proliferatív retinopathia kialakulásában inkább a társbetegségek (HT, ISZB, HC) jelenléte játszik szerepet. Az „A”-„B”-„C” alcsoportokban emelkedett sE-sel szinteket mértünk, de statisztikailag nem volt szignifikáns a különbség.

A NPDR („B”) csoportban nem találtunk összefüggést a sE-sel, valamint a DM fennállási időtartama között.

Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a HC és az ISZB között. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a DM fennállási időtartama, valamint a társbetegségek jelenléte az emelkedett sE-sel szinttel együtt szerepet játszhatnak a retinopathia kialakulásában.

A proliferatív retinopathiás („C”) csoportban nem találtunk összefüggést a sE-sel szinttel. Ebből arra következtethetünk, hogy az emelkedett sE-sel szintnek csak a retinopathia kialakulásában, a folyamat beindításában lehet szerepe, míg a későbbiekben, proliferatív szakban, a neovascularisatio kialakulásában már más tényezők szerepe pl.: VEGF, kerül előtérbe.

Eredményeink hasonlóak más szerzők eredményeihez, mint Boulbou és mtsai. által közölt eredményekkel. Munkacsoportjuk szignifikánsan magasabb sE-sel szinteket mért DM-ben, viszont nem találtak összefüggést a retinopathia súlyosságával. Matsumoto és mtsai. szignifikánsan magasabb sE-sel szintet mértek, mind a microangiopathiás, mind a macroangiopathiás DM csoportban, így feltételezik, hogy a selectinek szintje befolyásolja a szövődmények kialakulási esélyét.

A korábbi szerzők nem vizsgálták az összefüggést a sE-sel és az egyes DM alcsoportok között („A”-„B”-„C”), valamint azt sem, hogy a cardiovascularis rizikótényezők kialakulása befolyásolja-e a DM retinopathia súlyosságát.

Összegzésként, megállapíthatjuk, hogy a DM microangiopathia (retinopathia) és a sE-sel szint emelkedése között összefüggés lehet. A sE-sel szint valószínűleg nem befolyásolja a DM retinopathia súlyosságát („A”-„B”-„C” alcsoportok).

Munkánk és eredményeink szerint érdemes lehet már a DM felfedezésekor, vagy a retinopathia kialakulásának a kezdeti szakában a plasma sE-sel szinteket mérni. Emelkedett sE-sel szintek esetén, ennek csökkentésében segítségünkre lehet a sitagliptin, valamint a miglitol kezelés. Nagy hangsúlyt kell fektetni a társbetegségek kezelésére, mint pl. a HT, ISZB, HC, amelyek kezelés hiányában szintén szerepet játszanak a DM retinopathia súlyosbodásában.

6. AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

6.1. RVO-s betegek könnyében lévő VEGF szint kimutatása

6.1.1 A könnyből történő VEGF kimutatása non-invazív módszer, mely a beteg számára nem megterhelő. Pilot study-nk során kimutattuk az RVO-s betegek könnyében megjelenő VEGF-t. Ezek az értékek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a beteg másik szem könnyének VEGF szintjei.

6.1.2. RVO-s betegek plasmájában is mértük a VEGF szinteket, melyet a kontroll csoporthoz képest emelkedettek voltak.

6.1.3. RVO-s betegek könnyében mérhető VEGF szintek növekedésének a mértéke követhető az OCT-vel mért CRT értékek változásával. A könnyben lévő VEGF szint változásával az OCT-vel mérhető CRT értékek párhuzamosan változnak.

6.2. DM betegek körében mért plasma sE-sel szintek értékei és a retinopathia súlyossága közötti kapcsolat

6.2.1. Munkánk során igazoltuk, hogy DM betegek plasmájában a sE-sel szignifikánsan magasabb, mint a kontroll csoportban. Azon diabeteses csoportban, ahol jelen volt a retinopathia, a sE-sel szint szignifikánsan magasabb volt. Ha az AAO ajánlása szerinti stadium beosztásban („A”-„B”-„C” csoport) vizsgáljuk a retinopathiás betegek sE-sel szintjét, szignifikáns különbséget nem láthatunk, de a „B” csoportban emelkedő tendencia figyelhető meg.

6.2.2. Igazolódni látszik, hogy az emelkedett sE-sel inkább a DM korai szakában játszhat pathogenetikai szerepet.

6.2.3. A sE-sel szintek csupán addig mutattak szignifikáns emelkedést, amíg a retinopathia ki nem alakult. Proliferatív DM retinopathia esetén viszont a sE-sel, mint pathogenetikai tényező, már elveszítheti jelentőségét.

6.2.4. Összegezve, a DM korai szakában és a háttér retinopathia kialakulásában szerepe lehet az emelkedett VC szintnek, vércukor háztartás egyensúlyának (HbA1C), a cardiovascularis rizikótényezőknek (HT, ISZB, HC), valamint az emelkedett sE-sel-nek, mint arteriosleroticus tényezőknek. Viszont, amikor már a capillarisok endothel károsodása kialakult, és a lumenük beszűkült, a fenti tényezők hatása mérséklődik.



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/55/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kasza Márta
Neptun kód: KYYP91
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kasza, M.**, Meleg, J., Várdai, J., Nagy, B., Szalai, E., Damjanovich, J., Csutak, A., Ujhelyi, B., Nagy, V.: Plasma E-selectin levels can play a role in the development of diabetic retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 255 (1), 25-30, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-016-3411-1>
IF: 1.991 (2015)
2. **Kasza, M.**, Balogh, Z., Bíró, L., Ujhelyi, B., Damjanovich, J., Csutak, A., Várdai, J., Berta, A., Nagy, V.: Vascular endothelial growth factor levels in tears of patients with retinal vein occlusion. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 253, 1581-1586, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-015-3030-2>
IF: 1.991

További közlemények

3. Balogh, Z., **Kasza, M.**, Várdai, J., Reznik, I., Damjanovich, J., Csutak, A., Berta, A., Nagy, V.: Analysis of optic disc damage by optical coherence tomography in terms of therapy in non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Int. J. Ophthalmol.* 9 (9), 1352-1354, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18240/ijo.2016.09.20>
IF: 0.939 (2015)
4. Nagy, V., Balogh, Z., **Kasza, M.**, Ujhelyi, B., Csutak, A., Reznik, I., Damjanovich, J., Berta, A., Pflieger, G.: Cardiovascular and thrombophilic risk factors in retinal vein occlusion. *Exp. Clin. Cardiol.* 20 (1), 238-244, 2014.





DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



5. Nagy, V., Kolozsvári, B. L., Balogh, Z., Csutak, A., **Kasza, M.**, Nagy, B., Kardos, L., Berta, A., Pfliegler, G.: Increased level of platelet P-selectin in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy.
Graefes Arch. Clin. Exper. Ophthalmol. 251 (3), 917-922, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-012-2196-0>
IF: 2.333
6. Losonczy, G., Fekete, Á., Vokó, Z., Takács, L., Káldi, I., Ajzner, É., **Kasza, M.**, Vajas, A., Berta, A., Balogh, I.: Analysis of complement factor H Y402H, LOC387715, HTRA1 polymorphisms and ApoE alleles with susceptibility to age-related macular degeneration in Hungarian patients.
Acta Ophthalmol. 89 (3), 255-262, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-3768.2009.01687.x>
IF: 2.629
7. **Kasza, M.**, Berta, A., Pfliegler, G., Nagy, V.: Az Eales-betegség klinikai tünetei, differenciáldiagnosztikai problémái, kezelése.
Szemészet. 144, 92-94, 2008.
8. Módos, L., **Kasza, M.**: A száraz szem tünetei, diagnosztikája és kezelése.
Praxis. 15 (5), 33-34, 2006.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,883

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 3,982

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, 2017.03.13.



7. TOVÁBBI SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

7.1. Az értekezés témájához kapcsolódó előadás

- M. Kasza, Z. Balogh, L. Biro, B. Ujhelyi, I. Reznek, J. Várdai, A. Berta, V. Nagy
Vascular endothelial growth factor levels in tears of patients with retinal vein occlusion
114 th Meeting of German Ophthalmology Society (DOG), 25-28. September 2014, Leipzig as been addressed with a Travel award

7.2. Egyéb előadások

- Kasza M., Módis L.:
Immun stromalis keratitis esetbemutatás
Immunológiai-, szemészeti közös kongresszus, Budapest, 2010. április 24.
- V. Nagy, Gy. Pfliegler, M. Kasza, M. Fodor, A. Berta:
The role of ophthalmologist in the identification of orphan disease
Amsterdam, Netherlands: 17th Congress of SOE, 2009 június 13-16.
- Kasza M., Gáspár B., Németh G., Kerek A.:
Blepharospasmus kezelése Botulinum A toxinnal és a száraz szem
Magyar Szemorvostársaság 2008. évi kongresszusa, Pécs
- Kasza M., Módis L.: Impressziós citológia a szárazszem diagnosztikájában
Magyar Szemorvostársaság 2007. évi kongresszusa, Debrecen
- Kasza M.: A szemfenéki vascularis történések tünetei, rizikófaktorai
Az ér-, és ideghártya betegségei, Továbbképző tanfolyam, 2006. okt. 13-14.