

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**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.

TARTALOMJEGYZÉK

<u>1. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS</u>	7. oldal
1.1. Szemfenéki vascularis történések	7. oldal
1.1.1. Retinalis vénás elzáródás (RVO)	7. oldal
1.1.2. Vascularis Endothelialis Növekedési Faktor (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF)	9. oldal
1.2. Diabetes Mellitus (DM) következtében kialakuló diabeteses retinopathiák	12. oldal
1.2.1. DM angio-, retinopathia kialakulását befolyásoló tényezők	15. oldal
1.2.1.1. A selectinek	15. oldal
1.2.1.1./a. A solubilis E-selectin (sE-sel)	17. oldal
1.2.1.1./b. A thrombocyták membránjához kötött P-selectin (P-sel) és a plasmában cirkuláló solubilis P-selectin (sP-sel)	17. oldal
<u>2. CÉLKITŰZÉS</u>	20. oldal
2.1. RVO-s betegek könnyéből történő VEGF szint kimutatása	20. oldal
2.2. sE-sel szintek mérése DM betegek esetében	20. oldal
<u>3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK</u>	22. oldal
3.1. Betegek	22. oldal
3.1.1. RVO-s betegek	22. oldal
3.1.2. DM betegek	24. oldal
3.2. Az alkalmazott vizsgálatok	25. oldal
3.2.1. RVO-s betegek vizsgálatai	25. oldal
3.2.2. DM-s betegek vizsgálatai	25. oldal
3.3. Beleegyező nyilatkozat	26. oldal

3.4. Laboratóriumi módszerek.....	26. oldal
3.4.1 RVO-s betegek könny minta vétele.....	26. oldal
3.4.2. A VEGF szintek meghatározása.....	27. oldal
3.4.3. DM betegek laboratóriumi vizsgálatai.....	27. oldal
3.5. Statisztikai módszerek.....	28. oldal
3.5.1. Statisztikai módszerek RVO-s betegek esetében.....	28. oldal
3.5.2. Statisztikai módszerek DM-s betegek esetében.....	28. oldal
<u>4. EREDMÉNYEK.....</u>	29. oldal
4.1. RVO-s betegek mérési eredményei.....	29. oldal
4.1.1. RVO-s betegek könnyében mérhető VEGF szintek változása a vizsgálatok során.....	29. oldal
4.1.2. RVO-s betegek Centrális Retina Vastagságának (CRT) időbeni változása.....	30. oldal
4.1.3. RVO-s betegek érintett-, és másik szem könnyében mérhető VEGF szintek, valamint plasma-ban mérhető VEGF szintek közötti korreláció.....	30. oldal
4.1.4. RVO-s betegek könnyében mérhető VEGF szintek változása, valamint a CRT értékek időbeli változása a vizsgálatok során.....	32. oldal
4.2. DM betegek plasma sE-sel szintjei a DM retinopathia különböző stádiumaiban.....	33. oldal
4.2.1. Statisztikai elemzés a DM alcsoportokban.....	36. oldal
<u>5. MEGBESZÉLÉS.....</u>	40. oldal
5.1. RVO-s betegek könnyében mért VEGF szintek.....	40. oldal
5.2. DM betegek plasma sE-sel szintjei és a diabeteses retinopathia súlyossága közötti összefüggés.....	45. oldal
<u>6. AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....</u>	47. oldal
6.1. RVO-s betegek könnyében lévő VEGF szint kimutatása..	47. oldal

6.2. DM betegek körében mért plasma sE-sel szintek értékei és a retinopathia súlyossága közötti kapcsolat.....	47. oldal
<u>7. SUMMARY.....</u>	49. oldal
7.1. VEGF levels in tears of patients with RVO.....	49. oldal
7.2. Correlation between plasma sE-sel level and the severity of retinopathy in DM patients	49. oldal
<u>8. A TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK HASZNOSÍTHATÓSÁGA.....</u>	51. oldal
<u>9. IRODALOMJEGYZÉK.....</u>	52. oldal
<u>10. KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁR ÁLTAL HITELESÍTETT PUBLIKÁCIÓS LISTA.....</u>	64. oldal
<u>11.TÁRGYSZAVAK.....</u>	65. oldal
<u>12. KEYWORDS.....</u>	65. oldal
<u>13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....</u>	66. oldal
<u>14. FÜGGELÉK.....</u>	67. oldal
Előadások.....	67. oldal

RÖVIDÍTÉSEK ÉS MOZAIKSZAVAK JEGYZÉKE

AAO	American Academy of Ophthalmology
AMI	Acut Myocardialis Infarctus
BRVO	Ág-thrombosis (Branch Retinal Vein Occlusion)
Ch↑	Hypercholesterinaemia
COPD	Chronicus Obstructiv Tüdőbetegség (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
CRT	Centrális Retina Vastagság (Central Retinal Thickness)
CRVO	Törzs-thrombosis (Central Retinal Vein Occlusion)
DM	Diabetes Mellitus
EGF	Epidermális Növekedési Faktor (Epidermal Growth Facort)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FLAG	Fluorescein Angiographia
HbA1C	Haemoglobin-A1C
HT	Hypertonia
DM1	Insulin Dependens Diabetes Mellitus (Insulin Dependent Diabetes Mellitus)
IL-1 β	Interleukin-1 β
IOP	Szemnyomás (Intra Ocular Pressure)
INV	Iris Neovascularisatio
IRMA	Intraretinalis Microvascularis Abnormalitás (Intraretinal Microvascular Abnormalities)
ISZB	Ischaemiás Szívbetegség
MA	Microaneurysma
MFI	Mean Fluorescence Intensity

NAION	Non-arteritises Anterior Ischaemiás Opticus Neuropathia
DM2	Non-Insulin Dependens Diabetes Mellitus (Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus)
NPDR	Non-Proliferativ Diabeteses Retinopathia
OCT	Optical Coherence Tomograph
PDR	Proliferativ Diabeteses Retinopathia
P-sel	Platelet-selectin (Kötött)
RVO	Occlusio Venae Centralis Retinae (Retinal Vein Occlusion)
sE-sel	Solubilis Endothelialis-Selectin (Soluble Endothelial-Selectin)
sP-sel	Solubilis Platelet-Selectin (Soluble Platelet-Selectin)
TNF- α	Tumor-Necrosis Faktor – α
Tg $\uparrow$	Hypertriglyceridaemia
VEGF	Vascularis Endothelialis Növekedési Faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)

1. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A fejlett országokban a vakság leggyakoribb okai az időskori macula degeneratio, a szürkehályog, a glaucoma, valamint a diabetes mellitus (DM) okozta retinopathia [1].

1.1. Szemfenéki vascularis történések

Tágabb értelemben a szemfenéki vascularis történések közé tartozik a DM angio/retinopathia következtében kialakuló látásromlás is.

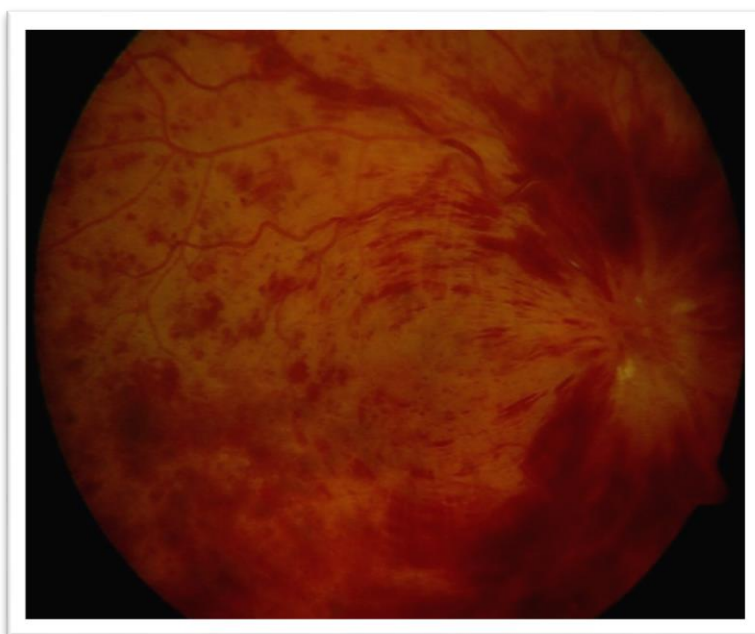
Szűkebb értelemben, az occlusio venae centralis retinae (RVO), melynek két típusát különböztetjük meg: törzs-thrombosis (az angol irodalomban: central retinal vein occlusion - CRVO), illetve ág-thrombosis (branch retinal vein occlusion - BRVO), az occlusio arteriae centralis retinae, valamint a Non-arteritises Anterior Ischaemiás Opticus Neuropathia (NAION). A kórképek multifaktoriális megbetegedések, melyek pontos etiológiája, patogenesisise a mai napig sem teljesen tisztázott. Hatásos, oki kezelésük sem ismert. 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 a szemfenéki vascularis kórképek között gyakrabban előforduló megbetegedés, mely látásromlással, látótér kieséssel, macula oedemával társulhat.

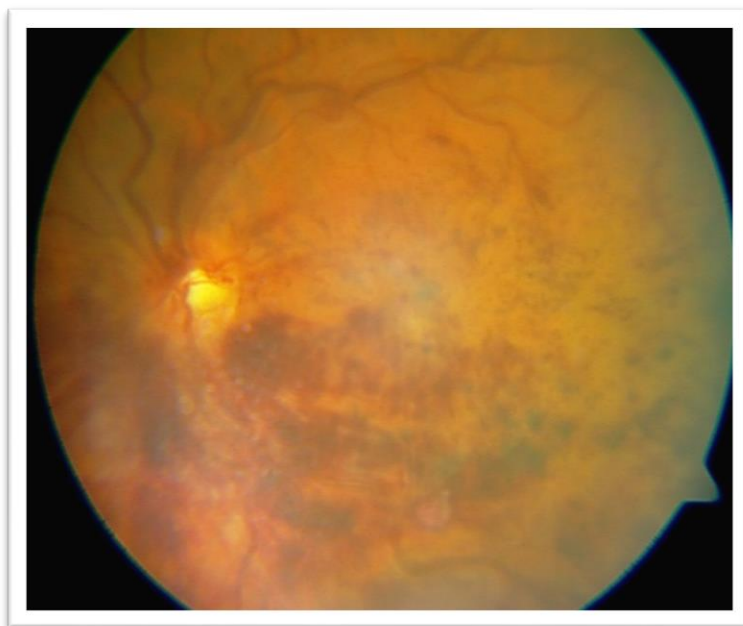
Az RVO érintheti az egész véna törzset (CRVO) (1. kép), illetve egyes ágakat (BRVO) (2. kép). Az elzáródás az artériás keringés jelentős elégtelenségével is járhat, így megkülönböztethetünk ischaemiás-, illetve nem ischaemiás vénás elzáródást. A szemfenéki thrombosis kialakulásában a Virchow-triász játszhat 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, jellegetesek a kanyargós, telt vénák, a csíktolt vérzések, az ischaemiás cotton-wool gótok. A kisereken az atherosclerosis tüneteit láthatjuk. A keringésromlás következtében papilla- és macula oedema is kialakulhat. A későbbiekben szövődményként érűdonképződések alakulhatnak ki, kezeletlen, ischaemiás típusban neovascularisatio, secunder glaucoma is jelentkezhethet.



1. kép:

Törzs-thrombosis (CRVO) szemfenéki képe: Fundusszerte csíktolt vérzések láthatóak, a papilla-, a macula oedemás, a vénák teltek, tágultak, kanyargósak, cotton wool spot-ok láthatóak (saját forrás).



2. kép:

Ág-thrombosis szemfenéki képe (BRVO): A jellegetes szemfenéki elváltozások az alsó temporalis érárkád mentén láthatóak (saját forrás).

1.1.2. Vascular Endothelial Growth Factor (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 (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF), mely a növekedési faktorok családjába tartozik. Megkülönböztetünk VEGF-A, és VEGF-B csoportot, szemészeti szempontból legnagyobb szerepe az VEGF-A-nak van [2].

Először Senger és munkatársai fedezték fel 1983-ban, mely a vascularis permeabilitás növekedése révén oedemát okozott [3]. Az eredeti humán VEGF-A-nak különböző isoformái léteznek (VEGF 121, 165, 189, és 206), melyeknek különböző a heparin kötő képességük. A

legnagyobb szemészeti jelentőség a VEGF-A csoportban, a VEGF 121-es, és VEGF 165-ös izomereknek 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 [4,5].

A VEGF 121 és 165 isoformáknak szerepük van mind a fiziológiás, mind a patológiás érújdonképződésben is. A hypoxia fontos indukáló faktora a VEGF-A expresszáldásának, ami patológiás érújdonképződéshez, myocardialis ischaemiához, atherosclerosishoz, arthritishez, és egyes tumorok kialakulásához is vezethet [6]. A VEGF-A az endothel sejtekre mitogén hatással bír, emellett megnöveli a microvascularis permeabilitást. Aktiválja a phospholipase-C-t, fokozza a szöveti faktor expresszióját, és stimulálja a von Willebrand faktor felszabadulását az endothel sejtekből. A VEGF-A normál szintje nehezen meghatározható érték, de Larsson és munkatársai mérései alapján 80 egészséges ember átlagos serum VEGF-A szintjét 500 ng/l alattinak, plasma VEGF-A szintjét pedig 80 ng/l alattinak találták [7].

A VEGF-et már kimutatták-, pl.: humán retina pigment epithel sejtekben [8,9], és, - humán retinalis glia sejtekben is [10], valamint a retinalis neovascularisatióban való szerepét is igazolták [11]. Alacsony koncentrációban humán cornealis epithel sejtekben is megjelenhetnek [12]. Más tanulmány, VEGF-szerű (hasonló) proteint azonosított a humán normál cornealis epithelium basal membránjában, mely az egyik legfontosabb faktor a cornealis neovascularisatio kialakulása szempontjából [13].

Excimer laser photorefractiv keratectomiát követően a VEGF-ek szintje szignifikánsan megemelkedik a könnyfilmben. A könnyfilmben lévő növekedési faktorok potenciális származási helyei a könnymirigyek, a cornealis és conjunctivalis sejtek, valamint a conjunctiva erei is lehetnek. A VEGF-ek lehetséges funkciója a könnyfilmben az érelváltozások

megakadályozása, a cornealis egyensúly biztosítása lehet. Ha a VEGF mennyisége megnövekszik, a conjunctiva ereinek permeabilitása is nő [14]. Photorefractív keratectomiát követően a krónikus dohányzás pozitív korrelációt mutat a VEGF szinttel, így ezáltal késlelteti a re-epithelizációt, a cornealis gyógyulási folyamatot [15]. A könnyben lévő VEGF-ek szintje szignifikánsan magasabbnak adódott neovascularisált corneák esetében, mint a kontroll csoportban [16].

CRVO- és BRVO betegeken a vér-retina gát károsodásának következtében másodlagosan károsodnak a capillarisok endothel sejtjei [5]. A hypoxia által indukált VEGF-ek megnövelik a capillarisok endotheljeinek a permeabilitását [17-19]. Mindezekből következik, hogy a CRVO-ban, és a BRVO-ban a keringészavar miatt, hypoxia lép fel. A vér-retina gát sérülésének következtében az erek permeabilitása megnövekszik, retina-, illetve az elzáródás helyétől függően, és macula oedema alakulhat ki. Az esetek egy része reverzibilis, de jelentős részében súlyos, és végleges fotoreceptor károsodással is járhat.

Újabb kutatási eredmények az ischaemiás RVO és a neovascularisatio, valamint a macula oedema kialakulásában a VEGF 121, 165 pathogenetikai szerepét igazolták, így anti-VEGF intravitrealis injectió adásával, korábban nem elérhető, oki kezelést alkalmazhatunk. A visus javulás mértéke nagyobb és tartósabb lehet [20].

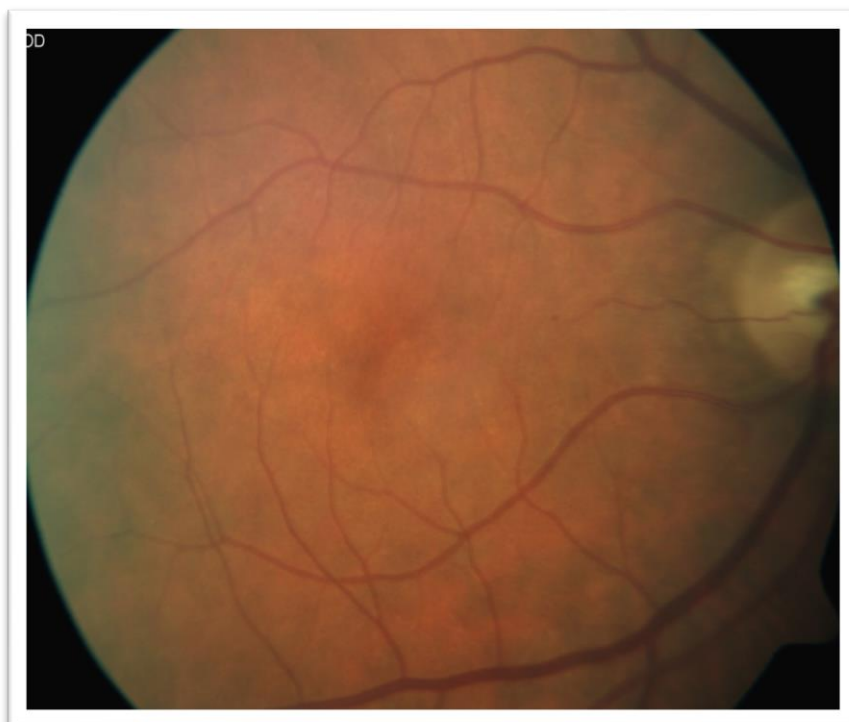
Korábbi vizsgálatok alapján ismert, hogy RVO betegeken csarnokvízben mérhető VEGF szint korrelál az üvegtestben mérhető VEGF szinttel, valamint korrelálnak a macula oedema mértékével is [4-5, 21].

1.2. DM következtében kialakuló diabeteses retinopathiák

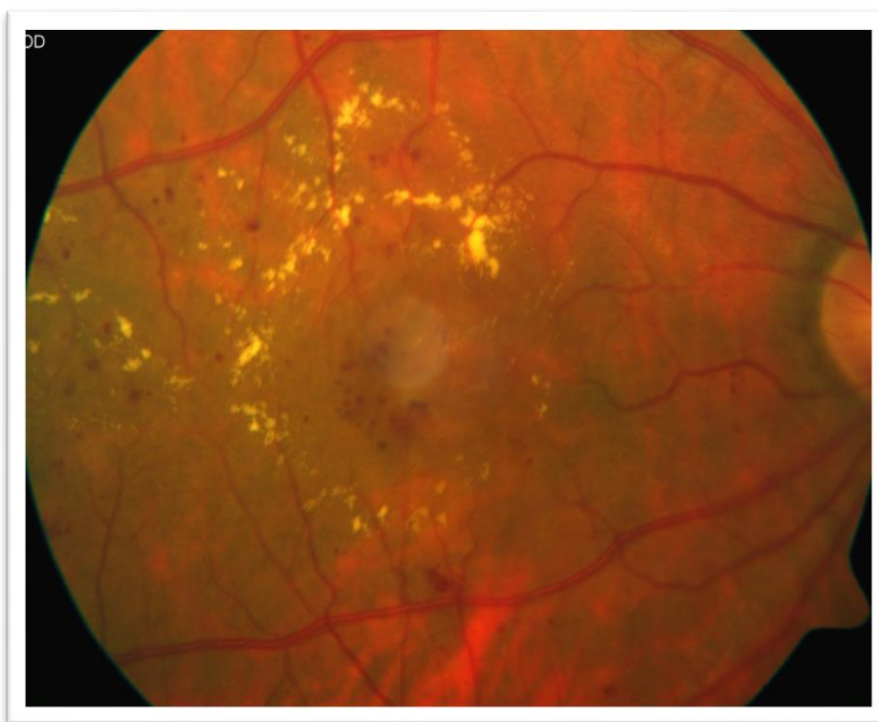
Tágabb értelemben a szemfenéki vascularis történések közé sorolható a DM következtében kialakuló micro/macroangopathia, illetve retinopathia is. A világon kb: 93 millió ember szenved DM retinopathiában, 17 millióan proliferatív retinopathiában, 21 millió embernél már macula oedema is társult, valamint 28 millió embernél a látást fenyegető, súlyos retinopathia alakult ki [22-23]. 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 [24-25]. A DM retinopathia súlyossága, a szemfenéki kép, visus és egyéb rizikófaktorok alapján, az American Academy of Ophthalmology (AAO, 2012) ajánlása szerint, több stádiumra osztható: az első csoportban lévő betegeknél szemfenéki eltérés nem látható (3/a. kép). A következő csoportba tartozó non-proliferatív diabeteses retinopathiás betegeken belül (NPDR – 3/b. kép) 3 alcsoportot különböztetnek meg a súlyosság szerint (enyhe, közepesen súlyos, valamint súlyos NPDR), illetve az utolsó csoportba a proliferatív diabeteses retinopathiás (PDR – 3/c., 3/d. kép) betegek kerültek. A proliferatív csoporton belül megkülönböztetünk üvegtesti vérzést, és neovascularisatiós csoportot (1. táblázat) [26].

„A” csoport	Diabetes mellitusban szenvedő beteg, szemfenéki eltérés nélkül
„B” csoport	Non-proliferatív diabeteses retinopathia (NPDR)
	Enyhe - csak mikroaneurysmák (MA) vannak
	Közepesen súlyos - Több MA, de nem éri el a súlyos fokú szintet
	Súlyos - 4-2-1 szabály, de még nincs proliferatív retinopathia
	• súlyos intraretinalis vérzés és MA 4 quadransnyi területen • vénás gyöngyszerű lefűződés 2 quadransnyi területen • Intraretinalis microvascularis abnormalitás (IRMA) 1 vagy több quadransnyi területen
„C” csoport	Proliferatív retinopathia (PDR): az egyik, vagy mindkét tünettel:
	• Neovascularisatio • üvegtesti, vagy preretinalis vérzés

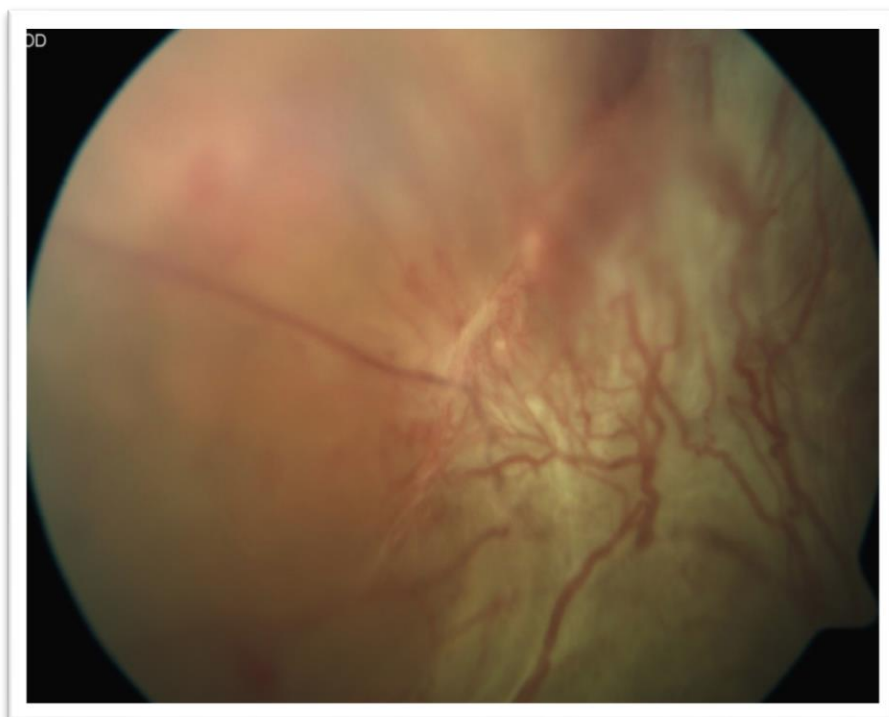
1. táblázat: AAO ajánlása szerinti diabeteses retinopathia súlyossági stádiumai



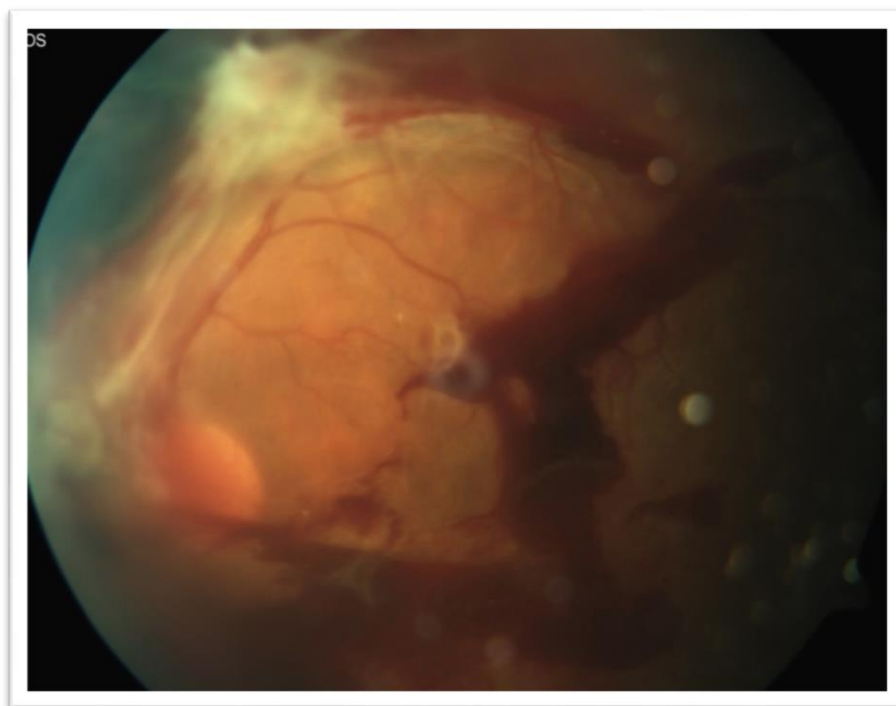
3/a. kép: Szemfenéki kép, diabeteses elváltozás nem látható (saját forrás).



3/b. kép: NPDR képe: Fundusszerke, valamint a macula alatt MA-k, tócsás vérzések, cotton-wool gócok láthatóak. A hátsó póluson számos kemény drusen (saját forrás).



3/c. kép: PDR képe: Számos érújdonképződés látható, tractions ablatio retinae-vel együtt (saját forrás).



3/d. kép: PDR képe: Kiterjedt preretinalis, illetve üvegtesti vérzés képe (saját forrás).

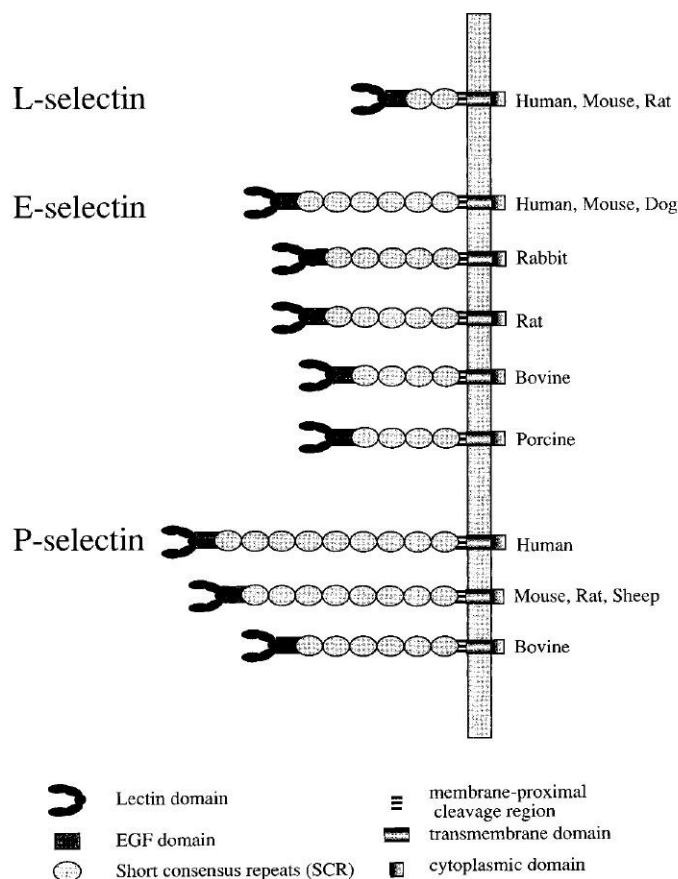
1.2.1. DM angio-, retinopathia kialakulását befolyásoló tényezők

A proliferatív retinopathia a DM legsúlyosabb szemészeti szövődménye. Az adhaesiós molekulák szintjének a növekedése a retinalis érrendszerben valószínűleg befolyásolja a DM retinopathia kialakulását, melyet az endotheliumhoz való macrophag és leukocyta adhaesio, valamint az ezáltal kialakult capillaris oclusio és retinalis ischaemia okoz. Az érújdonképződés a nagy kiterjedésű, chronicus ischaemiás területekkel függ össze [27], illetve az innen felszabaduló, vasoactiv anyagok (pl.: VEGF) hatására alakul ki [28]. A DM retinopathia által okozott súlyos látáscsökkenés leggyakoribb oka a macula oedema, mely nem proliferatív és proliferatív stádiumban egyaránt előfordulhat [25, 28].

A proliferatív DM retinopathia súlyosságát és előrehaladásának gyorsaságát jelentősen befolyásoló tényező a HT [29], valamint az esetlegesen társuló emelkedett serum lipid szint [30-32]. Több tanulmány alátámasztotta a betegség fennállási idejének, valamint a DM típusának a szerepét [26]. DM1 esetén hamarabb kialakulhatnak a szemészeti tünetek. Az alvadási faktorok, a vese betegségek, a fizikai aktivitás hiánya, és egyéb acut betegségek, a terhesség társulása gyorsíthatja a proliferatív DM retinopathia kialakulását, súlyosságát [33].

1.2.1.1. A selectinek

A selectinek az adhaesiós molekulák családjába tartoznak, melyek szöveti károsodáskor, valamint gyulladásos folyamatok során az endothel sejtek és a leukocyta 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 domén, egy epidermalis növekedési factor (EGF)-szerű domén, valamint 2-9 rövid láncú complement kötő proteinhez hasonlító rész [34] (4. kép).



4. kép: Selectinek szerkezeti képe:

Huang, K.S., B.J. Graves, and B.A. Wolitzky: *Functional analysis of selectin structure* Edit by D. Vestweber.

Amsterdam: Harwood, 1997, vol.3, p: 1-29.

Minden selectin egy egyedülálló és karakterisztikus extracelluláris régióval rendelkezik, ami egy calcium dependens lectin domén, egy epidermalis növekedési factor (EGF)-szerű domén, valamint 2-9 rövid láncú complement kötő proteinhez hasonló rész.

A selectinek szintje gyorsan és erőteljesen megemelkedik különböző gyulladásos mediátorok hatására, mint pl.: interleukin-1 β , Tumor-Necrosis-Factor- α , Interferon- γ , substance P [35].

A DM és a HT gyakran előforduló, chronicus betegségek, mindkettő karakterisztikus endothel károsodást okoz [36], ami a solubilis adhaesiós molekulák expressziójához, plasma szintjének megemelkedéséhez vezet [37].

1.2.1.1/a. A solubilis E-selectin (sE-sel)

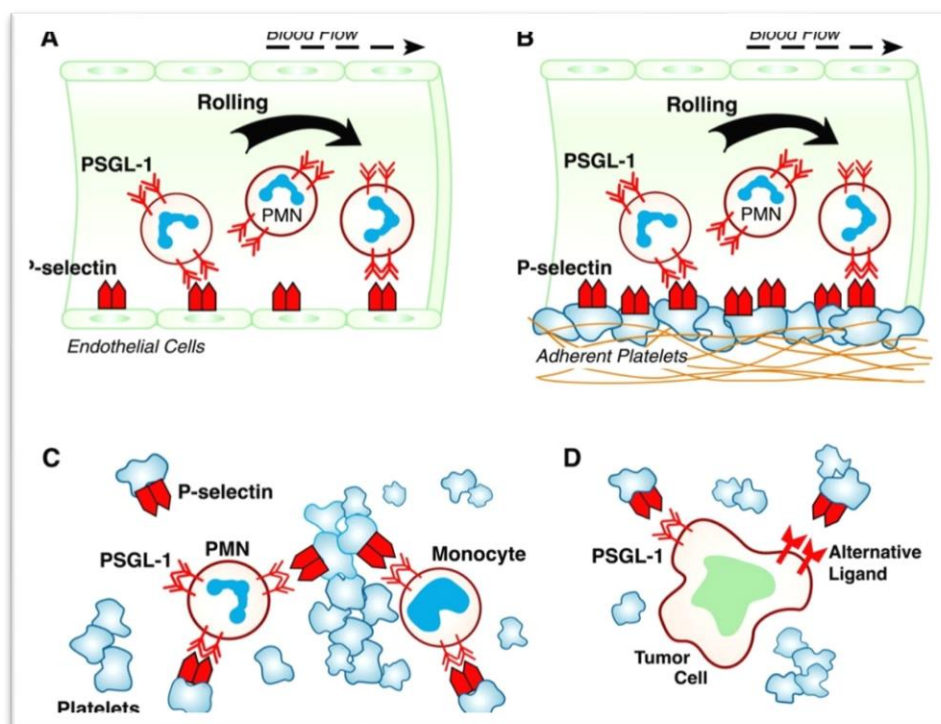
A sE-sel molekula szintje az endothel aktiváció markere [38]. Számos tanulmány beszámol arról, hogy a sE-sel szint megemelkedik hypertóniás [39-41] és a DM2 betegekben [42-53]. A megemelkedett adhaesiós molekula szint fontos szerepet játszik a DM macroangiopathia, atheroscleroticus vascularis betegségek kialakulásában [54-56]. Másrésről az emelkedett adhaesiós molekulák szintje korrelációt mutatott a DM microangiopathia, retinopathia kialakulásával is [56-59].

Magasabb sE-sel szintről számoltak be DM-ban, dyslipidaemiában, elhízás és dohányzás esetén is [60-61]. Más kórképekben pl.: előrehaladott atherosclerosisban [54,62-63] is magasabb sE-sel szint igazolódott. A sE-sel magasabb serum koncentrációja a cardiovascularis és cerebrovascularis megbetegedések (myocardialis infarctus, angina pectoris, hirtelen szívhalál, stroke) kialakulásának emelkedett kockázatával járhat [64-67].

1.2.1.1/b. A thrombocyták membránjához kötött P-selectin (P-sel) és a plasmában cirkuláló solubilis P-selectin (sP-sel)

A DM retinopathia gyakran társul microvascularis elváltozásokkal és capillaris occlusióval [68]. A thrombocyták fontos szerepet játszanak az érelzáródások kialakulásában. A DM betegekben a thrombocyták hypercoagulabilisek és hyperaggregabilisek lehetnek [69].

A P-selectinek a nem aktiválódott thrombocyták α -granulumaiban, valamint az endothel sejtek Weibel-Palade testjeiben tárolódnak. Az aktivált P-selectineknek 2 fő formájuk van, az egyik a thrombocyták membránjához kötött (P-sel), a másik a plasmában cirkuláló solubilis forma (sP-sel) [70]. Egy trigger hatására (pl: thrombin, histamine) a thrombocytá-, valamint az aktivált endothel sejtek felszínére expresszálódik, ami a leukocyták mediációjában is szerepet játszik, és egy rolling mechanizmust indít be, melynek során a thrombocyták felszínükről elvesztik, levedlik a P-selectint, és a plasmában keringenek tovább [71,72].



1. ábra: P-selectinek aktiválódása

Zimmerman GA.: Two by two: the pairings of P-selectin and P-selectin glycoprotein ligand 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Aug 28;98(18):10023-4.

A thrombocytákhoz kötött P-selectin aktiválja a polymorphonuclearis sejteket, melynek következtében önmaga egy vedlési folyamaton megy keresztül. Az expresszálódott, és aktiválódott P-selectin lehámlik a thrombocyták felszínéről, és a plasmában kering tovább.

A sP-sel és a sE-sel szintek meghatározása enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) segítségével, a plasma P-sel detektálása és mérése flow cytometriával történik [71].

Számos tanulmány beszámolt már az emelkedett plasma sP-sel pathogenetikai szerepéről különböző szisztémás betegségekkel kapcsolatban [70,73-74], mint pl. HT [75], ISZB [76-82], ischaemiás stroke [83-87], perifériás vascularis betegségek [88-89], és hypercholesterinaemia (HC)[90-93].

Az aktiválódott P-selectinek erős macrophag és leukocytá adhaesiót indukálnak a capillarisok endotheliumán, így capillaris obstrukciót, és retinalis ischaemiát okoznak. Az endothel sejtek változása jól ismert DM-ban. Számos tanulmány beszámolt már arról, hogy DM betegek esetén, a sP-sel szintek megemelkedtek [53, 57, 76-77, 94-106]. Egyes szerzők rámutattak arra, hogy a P-sel szint emelkedése DM betegeknél fontos szerepet játszik a retinopathia kifejlődésében is [57, 100, 102-103, 105]. A sP-sel tartósan kering a plasmában és inkább az atherosclerosis [70, 76-78, 97-99, 107-108], a P-sel pedig a microthrombusok keletkezésében játszhat szerepet [70, 83-85, 88, 102-103, 105].

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

3.1.1. RVO-s betegek

Vizsgálatainkat 2013. és 2014. között a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinika ambulanciáján végeztük, ahol 15 betegnél diagnosztizáltunk RVO-t.

A betegek vizsgálatba való beválogatásnál az alábbi kizáró tényezőket vettük figyelembe: kizártuk azon 2 beteget, akiknél aktív tumoros betegség állt fenn, valamint azt az egy beteget, aki rheumatoid arthritisben szenvedett. 2 beteg a tünetek jelentkezését követően 2-3 hónap múlva jelentkezett, amikor már iris rubeosis és secunder glaucoma is kialakult. 1 betegünk chronicus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedett. Ezeket a betegeket vizsgálatainkból kizártuk. 1 beteg csak az első alkalommal vett részt a vizsgálatainkban, majd a többi kontroll vizsgálaton nem jelent meg. Emiatt nem tudtuk a vizsgálatunkba bevonni.

Így vizsgálatunkban 8 beteg (3 nő, 5 férfi) maradt, 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. Egy betegnél HC, 2 betegnél HT, és 2 betegnél DM fordult elő. 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 adatai, valamint a kísérőbetegségek társulásának elemzésénél két-két folyamatos változó összehasonlítására a Mann-Whitney U tesztet, a nem folyamatos változók elemzésére a Fisher exact tesztet alkalmaztuk. Az adatokat a 2. Táblázat tartalmazza.

	eset	CRVO	BRVO	átlag kor $\pm$ SD	férfi/nő	HC, Tg $\uparrow$	HT	DM
RVO-s betegek	8	3	5	70,37 $\pm$ 5,24	5 / 3	4	7	3
Kontroll	5			63,60 $\pm$ 16,24	4 / 1	1	2	2
p				0,72	0,55	0,33	0,11	0,93

**2. táblázat: Demográfiai adatok és a kísérőbetegségek elemzése Mann-Whitney U, valamint Fisher exact
teszt segítségével**

Rövidítések magyarázata: HC: Hypercholesterinaemia, Tg $\uparrow$: Hypertriglyceridaemia, HT: Hypertonia,

DM: Diabetes Mellitus

Betegeink közül 2 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 jelentkezett ambulanciánkon. 7 betegnek ismert volt a HT, 3 férfi betegünknek DM is volt, egyikük DM1 típusú cukorbeteg volt. DM retinopathia egyikünkél sem fordult elő, HbA1C értékeik normális tartományon belüliek voltak. 4 beteg (3 férfi és 1 nő) esetében az anamnesztikus adatok alapján HC is igazolódott. A vizsgált betegeink nem szenvedtek asthma bronchiale, immunológiai betegségek, hypoxiával járó kórképek, COPD, tumoros megbetegedés, illetve egyéb gyulladásos kórképekben. Betegeink anamnesisében nem volt iris rubeosis, szemészeti gyulladásos-, illetve vitreoretinális megbetegedés. Egyik vizsgált betegünknek sem volt szemfelszíni megbetegedése, száraz szeműsége, ill. cornea vagy conjunctiva sérülése.

3.1.2. DM betegek

DM betegeinket 2014-2015-ben a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemklinika ambulanciáján megjelenő 102 DM-ban szenvedő beteg közül választottuk ki. Vizsgálatunkból kizártuk azon 8 beteget, akik súlyos nephropathia miatt dialysisen vettek részt. Nem kerültek be a vizsgálatba azon betegek (11 fő) sem, akiknél korábban súlyos cardiovascularis megbetegedés fordult elő (AMI, stroke). 8 vizsgált betegünk thrombocyta aggregatio gátló-, vagy vérhígító kezelésben részesült, vizsgálatainkból őket is kizártuk. 12 beteget kizártunk, mivel a diabeteses retinopathia stádium beosztása nem volt egyértelmű (határesetek/egyéb eltérések), valamint azon 6 betegünk sem került be a vizsgált csoportba, akiknek nem tárgult megfelelő mértékben a pupillája.

57 DM betegünk között 37 nő, valamint 20 férfi szerepelt, átlagéletkoruk: $61,71 \pm 12,31$ év volt. A fundus eltérések alapján 3 főcsoportot 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 háttér retinopathia (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 egyént (10 nő, 4 férfi; átlagéletkor: $63,06 \pm 10,46$ év) vizsgáltunk, akik 1 napos sebészetben ellátott szürkehályog műtétre érkeztek. Klinikai és/vagy anamnesticus adataikban nem szerepelt semmilyen vascularis, vagy szemészeti gyulladásos betegség, sem DM, sem tumoros megbetegedés.

3.2. Az alkalmazott vizsgálatok

3.2.1. RVO-s betegek vizsgálatai

Minden betegnél teljes körű szemészeti vizsgálatot végeztünk, melyek: a legjobban korrigált látásélesség, Goldmann periméter segítségével látótér vizsgálat, réslámpa vizsgálat, szemnyomás (IOP) mérés, fundus vizsgálat, és szükség esetén fluorescein angiographiás (FLAG) vizsgálat. Minden betegen pupillatágítást követően megmértük a centrális retina vastagságot is Optical Coherence Tomograph (Spectralis OCT) segítségével.

A vizsgálatokat a betegek ambulancián való első jelentkezésekor (V1), majd 1 hét múlva (V2), illetve 4 hét múlva megismételtük (V3).

A szemészeti vizsgálatok mellett az első alkalommal meghatároztuk a betegek plazma és könny VEGF szintjét, a kontroll vizsgálatok alkalmával a könny VEGF szinteket vizsgáltuk.

3.2.2. DM-s betegek vizsgálatai

Minden betegnél részletes anamnesis felvételét követően rögzítettük a betegek korát, nemét, a DM fennállásának idejét, típusát, a kísérőbetegségeket (ISZB, HT, HC), az alkalmazott gyógyszereik adatait. A HC diagnózisát a vizsgált betegeinken az anamnesztikus adatok, illetve a koleszterinszint csökkentő gyógyszerek szedése alapján állapítottuk meg. A vizsgálat alkalmával a legjobb korrigált látásélesség meghatározást, réslámpa vizsgálatot, IOP mérést és tágitott pupillával történt fundus vizsgálatot végeztünk, valamint minden betegnek Zeiss FF450+IR kamerával fundusfotót és szükség esetén FLAG vizsgálatot is készítettünk. 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 szükség esetén fluoreszcein angiográfia segítségével. Az egybehangzó klasszifikációt fogadtuk el.

3.3. Beleegyező nyilatkozat

Tanulmányainkat a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá, azokat a Helsinki Declaratio normáinak megfelelően végeztük, a betegek részletes és teljeskörű felvilágosítást követően, melyhez írásban hozzájárultak (RKEB/IKEB 3763-2013).

3.4. Laboratóriumi módszerek

3.4.1 RVO-s betegek könny minta 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 időtartama 2 perc volt, majd megmértük a 2 perc alatt levett kapillárisban lévő könnyhenger hosszát (mm). Ezt követően meghatároztuk, hogy 2 perc alatt hány µl 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.

3.4.2. A VEGF szintek meghatározása

A könnymintában lévő VEGF meghatározását ELISA kit segítségével végeztük. A plasma VEGF meghatározása a könyök vénából vett, hígítás nélküli, alvadásában gátolt vérből, ELISA kit segítségével történt.

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, a könny mintákat pedig hígítást követően mértük. Hígítás céljára Calibrator Diluent RD5K oldatot használtunk, melyet a kit tartalmazott. Mintáinkat 200 µl –re hígítottuk a kis volumen miatt.

3.4.3. DM betegek laboratóriumi vizsgálatai

Minden vizsgált beteg esetében rutin laboratóriumi vizsgálat és HbA1C szint meghatározás történt, melyet a Laboratóriumi Medicina Intézet munkatársai végeztek. 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 serum glükóz szintek egy Cobas analizátoron (Roche, Mannheim, Németország) kerültek lemerésre. A HbA1C értékeket pedig chromatographiás (HPLC) technikával (BioRad, Hercules, CA, USA) határozták 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, szobahőmérsékleten), majd a plasmát elkülönítettük, és az analízisig a mintákat -70°C-on tároltuk.

3.5. Statisztikai módszerek

3.5.1. Statisztikai módszerek RVO-s betegek esetében

3.5.1.1. A statisztikai analízist az SPSS szoftver 22-es verziójának (IBM Corp., Armonk, NY, USA) segítségével végeztük el.

3.5.1.2. Kétmintás t-próbát végeztünk az RVO-s betegek, study, ill. a másik szem könnyében mért VEGF szintek tekintetében. Ugyanilyen elemzést végeztünk a kontroll tagjain is. Elemzést végeztünk az egyes csoporton belül is. A mért értékek átlagát a V1. és a V2., a V1. és a V3., valamint a V2. és a V3. alkalommal mért értékekkel vetettük össze. Az OCT-vel mért centralis retina vastagság értékeit (CRT) is a fenti statisztikai teszttel elemeztük. Eredményeinket $p < 0,05$ alatt tekintettük szignifikánsnak.

3.5.1.3. V1 alkalmával levett könny-, és plasma VEGF szintek khí-négyzet (χ^2), Pearson-féle korrelációval hasonlítottuk össze.

3.5.2. Statisztikai módszerek DM-s betegek esetében

A statisztika analízist az IBM SPSS (verzió: 22,0), és a MedCalc (verzió 14.8.1) statisztikai programokkal 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 khí-négyzet tesztet, a folyamatos változók esetén pedig a Kruskal-Wallis analízist használtuk. Korrelációs analízisre a Spearman analízis tesztet használtuk. Az értékeit $p < 0,05$ alatt tekintettük szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. RVO-s betegek mérési eredményei

4.1.1. RVO-s betegek könnyében mérhető VEGF szintek változása a vizsgálatok során

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 idő előrehaladtával, eltérő könny VEGF szinteket találtunk. 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. ($p_{1-3}=0,113$, $p_{2-3}=0,596$) (3. táblázat).

	Study szem		Másik szem	
	Átlag VEGF szint $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)	p	Átlag VEGF szint $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)	p
V1	0,47 $\pm$ 0,48	p_{1-2} 0,023	0,37 $\pm$ 0,48	p_{1-2} 0,038
V2	0,99 $\pm$ 0,76	p_{1-3} 0,050	0,73 $\pm$ 0,69	p_{1-3} 0,113
V3	0,95 $\pm$ 0,49	p_{2-3} 0,874	0,64 $\pm$ 0,44	p_{2-3} 0,596

3. táblázat: RVO-s betegek könny VEGF szintjei a vizsgált szemén, illetve a nem beteg szemén. V1-V2 között az idő előrehaladtával szignifikáns VEGF szint emelkedést láthatunk

(V1: első vizsgálat, V2: 1 hét múlva, V3: 4 hét múlva történt vizsgálat, p_{1-2} : V1-V2. vizsgálat közötti p érték, p_{1-3} : V1-V3. vizsgálat közötti p érték, p_{2-3} : V2-V3. vizsgálat közötti p érték)

4.1.2. RVO-s betegek CRT értékeinek időbeni változása

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 ($p_{1-3} = 0,57$, $p_{2-3} = 0,11$) (4. táblázat).

Study szem		
	Átlag CRT $\pm$ SD (μm)	p
V1	429,75 $\pm$ 91,23	p_{1-2} 0,01
V2	497,62 $\pm$ 98,99	p_{1-3} 0,57
V3	447,37 $\pm$ 105,34	p_{2-3} 0,11

4. táblázat: CRT (μm) változása OCT segítségével az RVO-s szemén

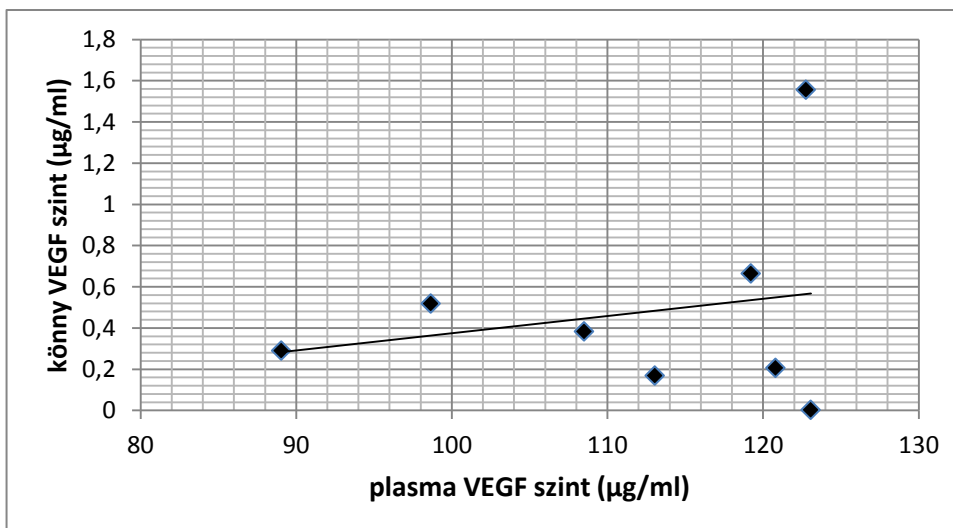
(V1: első vizsgálat, V2: 1 hét múlva, V3: 4 hét múlva történt vizsgálat, p_{1-2} : V1-V2. vizsgálat közötti p érték,

p_{1-3} : V1-V3. vizsgálat közötti p érték, p_{2-3} : V2-V3. vizsgálat közötti p érték)

4.1.3. RVO-s betegek érintett-, és másik szem könnyében mérhető VEGF szintek, valamint plasmában mérhető VEGF szintek közötti korreláció

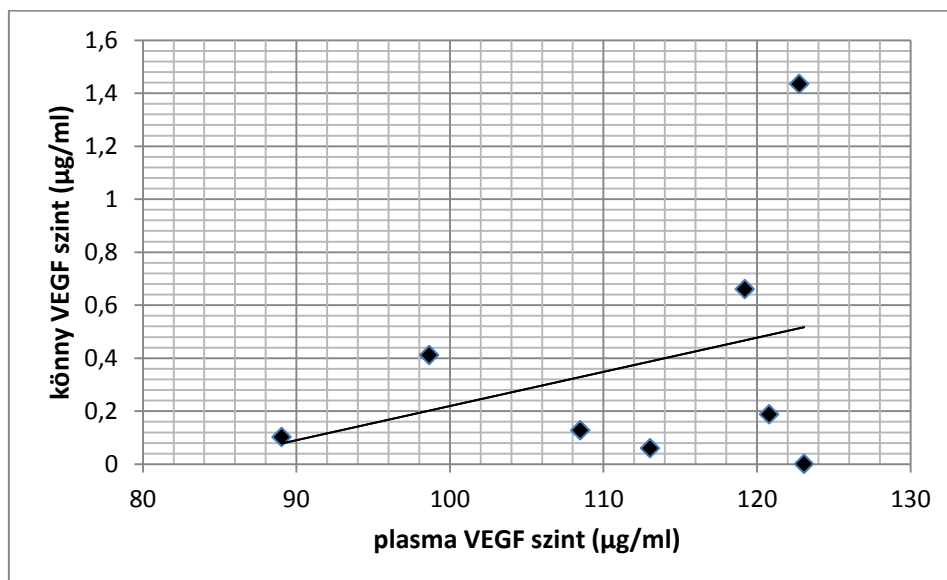
V1. alkalmával a betegek és a kontroll csoport tagjainak a plasmájában is megmértük a VEGF szinteket. Kétmintás t próba segítségével a betegek plasma VEGF szintje a betegség tüneteinek kialakulásakor (V1) szignifikánsan magasabb volt, a kontroll csoport tagjaihoz képest ($p=0,0001$).

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 ($r=0,21$, $p<0,05$), ahogy azt a 2. ábra a, és b, részén láthatjuk.



2 /a. ábra:

Az RVO-s szem könnyében, és a plasmában mért VEGF szint korrelációs ábrája

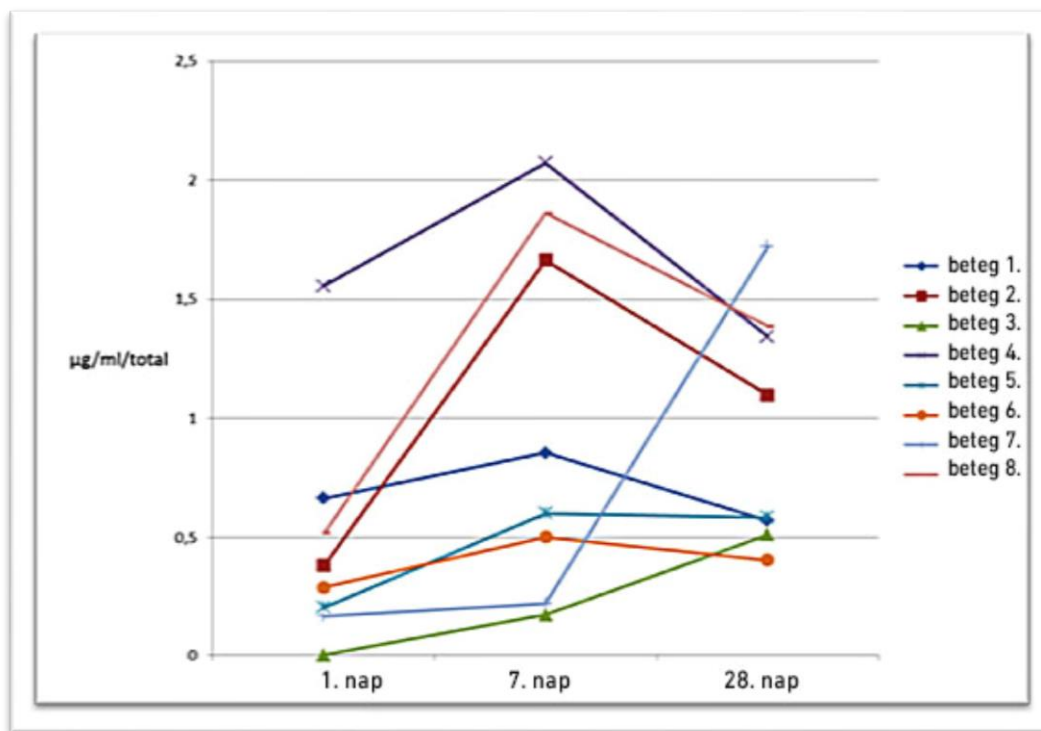


2/b. ábra:

A másik szem könnyében, és a plasmában mért VEGF szint korrelációs ábrája

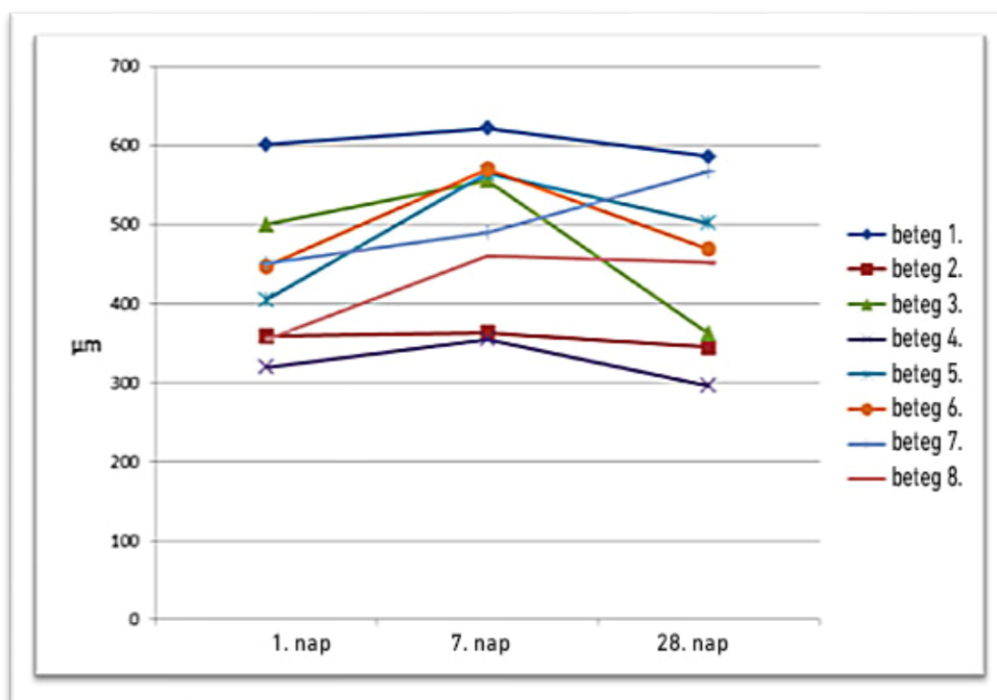
4.1.4. RVO-s betegek könnyében mérhető VEGF szintek változása, valamint a CRT értékek időbeli változása a vizsgálatok során

Vizsgáltuk az RVO-s szem könnyében mért VEGF szintjeinek, és az OCT vizsgálat CRT értékeinek időbeli változását, ill. egymáshoz való viszonyát is (3/a., és 3/b. ábra). Az eltérés statisztikailag nem volt szignifikáns.



3/ a. ábra:

RVO-s szem könnyének VEGF szintjének változása az idő függvényében



3/b. ábra:

RVO-s szem centrális retina vastagságának (OCT) változása az idő függvényében

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

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

A DM-os betegek sE-sel szintjei szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontroll betegek sE-sel szintjei ($p=0,03$). Ugyanilyen eltérés igazolódott az összes DM és a kontroll 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 31,60 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 (5.Táblázat).

Az egyes alcsoportok közötti különbség statisztikailag nem volt szignifikáns. A retinopathia kialakulásával emelkedő tendencia volt megfigyelhető, majd a proliferatív szakban az értékek valamelyest csökkentek, de nem érték el az ép fundusú betegek értékeit.

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 ($p < 0,05$).

Betegek csoportosítása (57)				
	Kontroll csoport (14)	„A” csoport (19)	„B” csoport (19)	„C” csoport (19)
férfiak / nők	4 / 10	9 / 17	6 / 13	7 / 12
p*	0,64		0,739	
Kor (év) median	63,50	66,00	67,00	57,00
(95% CI)	(57,68-68,20)	(60,00-70,21)	(58,82-70,65)	(47,78-64,65)
p*	0,86		0,078	
HbA1C% (4,2-6,1) median	5,60	6,80	6,90	7,50
(95% CI)	(5,20-5,81)	(6,15-7,40)	(6,20-7,82)	(7,07-9,30)
p*	<0,0001		0,03	
DM fennállási idő median	0	5,5	11	21
(95% CI)	(0,000-0,000)	(3,39-13,01)	(4,56-18,00)	(14,56-24,43)
p*	<0,0001		0,001	
sE-sel (ng/mL) median	26,55	31,60	36,90	32,60
(95% CI)	(20,40-33,22)	(25,81-36,50)	(27,00-47,80)	(25,05-39,19)
p*	0,03		0,627	

5. táblázat:

A beteg csoportok összehasonlítása nem, kor szerint, HbA1C % (4,2-6,1), a DM fennállási ideje (év), valamint a s E-sel értékei (ng/mL) szerint a kontroll csoport tagjaival együtt

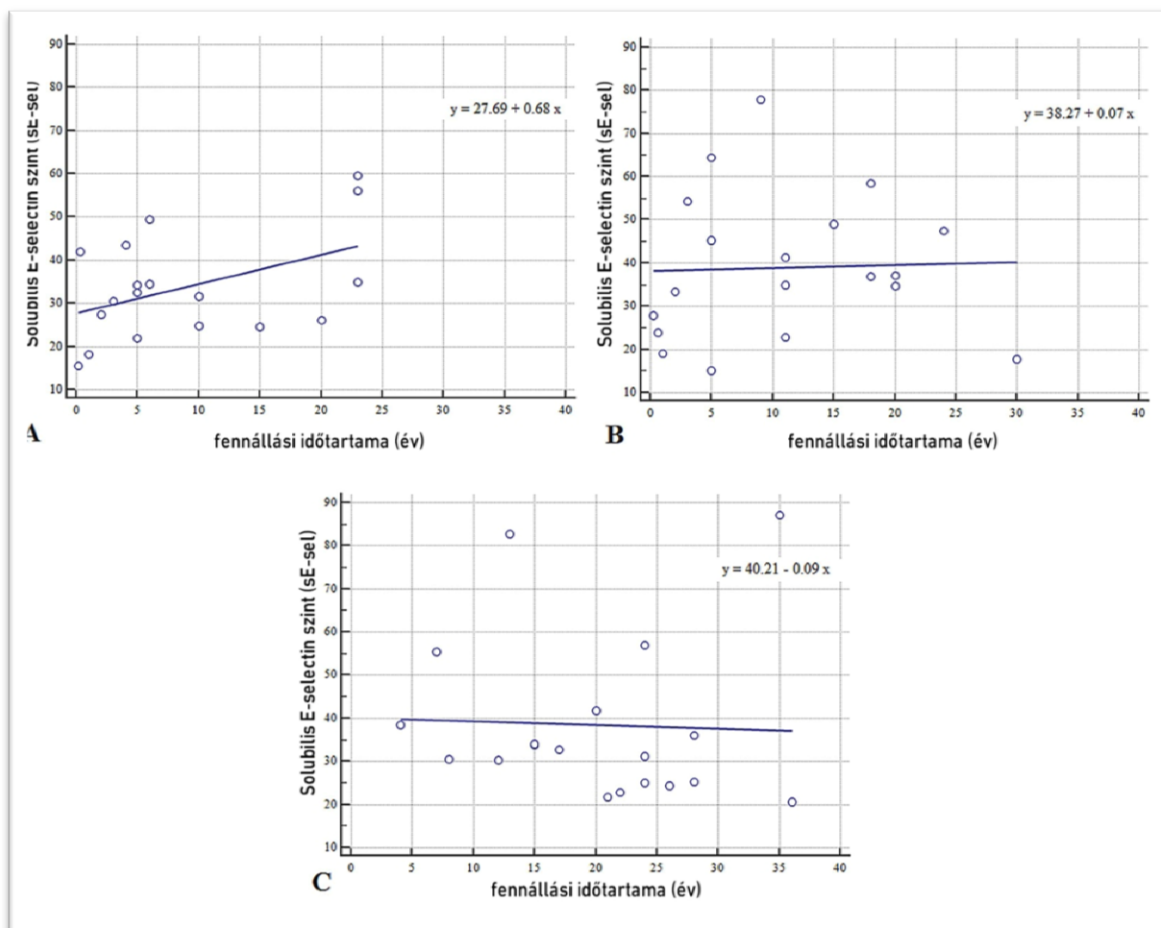
* Diabetes mellitusos betegek kontroll csoporttal való összehasonlítása (Mann-Whitney U teszt / Fisher's exact teszt segítségével) és a három diabeteses alcsoport összehasonlítása (Kruskal-Wallis analissel / chí-négyzet (χ^2) tesztel)

A $P^* < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak

4.2.1. Statisztikai elemzés a DM alcsoportokban

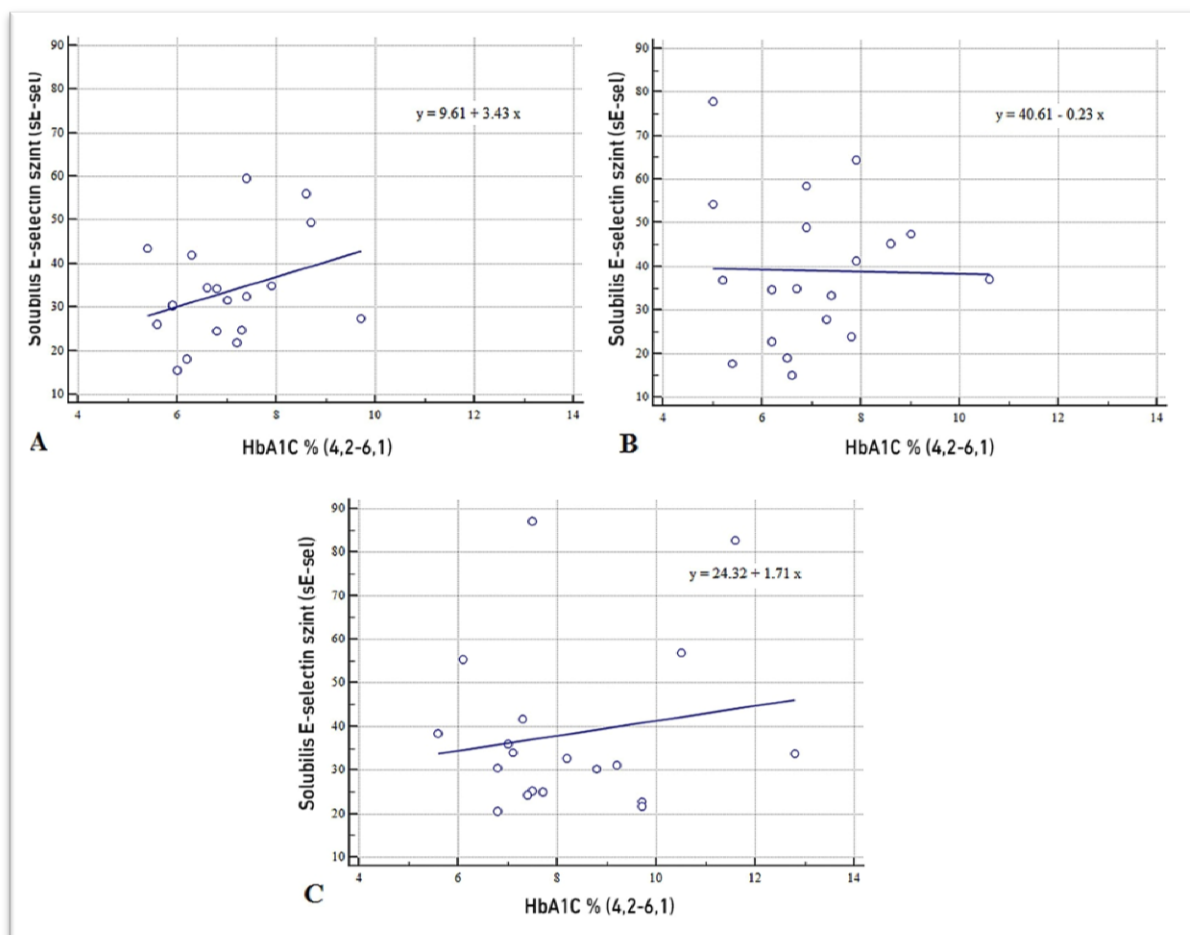
Adatainkat statisztikai szempontból tovább elemeztük Spearman korrelációs teszttel az egyes DM alcsoportokban („A”, „B”, „C” csoport).

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 $r=0,40$, $p=0,09$) (4., 5. ábra).



4. ábra:

A DM fennállási ideje és a sE-sel szintek korrelációs ábrája az „A”, „B”, „C” csoportba tartozó betegeken



5. ábra:

A HbA1C (%) értéke és a sE-sel szintek korrelációs ábrája az „A”, „B”, „C” csoportba tartozó betegeken

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 ($r=0,38$, $p=0,11$) (6. Táblázat).

„A” csoport

	R ₁	p ₁	R ₂	p ₂	R ₃	p ₃
DM fennállási idő	0,39	0,10	1,00		-0,40	0,09
HbA1C %	0,31	0,18	0,40	0,09	-0,07	0,75
HT	0,04	0,86	0,21	0,40	0,20	0,40
ISZB	0,38	0,11	0,55	<0,01	-0,17	0,46
HC	-0,48	0,04	-0,40	0,09	1,00	

„B” csoport

	R ₁	p ₁	R ₂	p ₂	R ₃	p ₃
DM fennállási idő	0,16	0,50	1,00		-0,30	0,21
HbA1C %	0,14	0,55	-0,02	0,90	0,07	0,77
HT	0,17	0,48	0,38	0,10	0,18	0,46
ISZB	-0,09	0,69	0,01	0,96	0,80	<0,0001
HC	0,10	0,68	-0,30	0,21	1,00	

„C” csoport

	R ₁	p ₁	R ₂	p ₂	R ₃	p ₃
DM fennállási idő	-0,27	0,25	1,00		-0,03	0,90
HbA1C %	-0,03	0,88	0,08	0,73	-0,08	0,74
HT	0,08	0,72	0,30	0,20	0,18	0,46
ISZB	-0,03	0,87	0,20	0,40	0,45	0,05
HC	<0,0001	1,00	-0,30	0,90	1,00	

6. táblázat: Az „A”, „B” és „C” csoportban mért sE-sel szint, DM fennállási idő és HC korrelációs

együtthatói a DM fennállási idejével, HbA1C%-vel, HT-val, ISZB-val, valamint a HC-val

R₁: plasma sE-sel szinttel való korreláció, R₂: DM időtartamával való korreláció, R₃: hypercholesterinaemiával való korreláció, p₁: a korreláció p értéke a plasma sE-sel szintjével, p₂: a korreláció p értéke a DM időtartamával, p₃: a korreláció p értéke a hypercholesterinaemiával, HT: hypertonia, ISZB: Ischaemiás szívbetegség, HC: hypercholesterinaemia

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 ($r=0,21$, $p=0,40$ / $r=-0,4$, $p=0,09$) (6. táblázat).

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 ($r=0,14$, $p=0,55$) (4., 5. ábra).

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 ($r=0,38$, $p=0,10$; $r=-0,30$, $p=0,21$; $r=0,01$, $p=0,96$) (6. táblázat).

A „**C**” csoportban statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk a HC és az ISZB között ($r=0,45$, $p=0,05$) (6. táblázat).

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 ($r=-0,03$, $p=0,88$) (4., 5. ábra).

A korreláció szintén nem volt statisztikailag szignifikáns a sE-sel szint és a HT, az ISZB, és a HC között sem ($r=0,08$, $p=0,72$; $r=-0,03$, $p=0,87$; $r<0,0001$, $p=1,00$) (6. táblázat).

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. RVO-s betegek könnyében mért VEGF szintek

A klinikumban több megbetegedés kialakulásában, súlyosbodásában is szerepet játszhat az emelkedett VEGF szint [109-115].

RVO esetén korábbi vizsgálatok már igazolták a csarnokvíz és az üvegtest emelkedett VEGF szintjét [4-5,17-19,22,116-119]. 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 [119-122].

Boyd és mtsai. ischaemiás CRVO esetén összefüggést találtak a csarnokvíz VEGF szintje, és az iris neovascularisatio (INV) mértéke között [123].

Tudomásunk szerint elsőként mutattuk ki, és mértük meg BRVO/CRVO-s betegek könnyéből a VEGF-et.

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

Munkánk során korrelációt találtunk a könny és a plasma VEGF szintje között is. Eredményeink szerint, a plasma VEGF szintje hatással lehet a könny VEGF szintjére is. Fenti tényező valószínűleg összefüggésben áll azzal, hogy a könnymirigy kiválaszthatja a könnybe a VEGF-et.

Ugyanakkor, különbséget találtunk az RVO-s szem könny VEGF szintje és a kontroll csoport könny VEGF szintje, valamint a nem érintett szem VEGF szintje között is. Ez azzal állhat összefüggésben, hogy RVO következtében, a szisztémás hatás mellett, helyi tényezőknek is szerepe lehet a könny VEGF szintjének megemelkedésében. Ilyen lehet a helyi vénás stasis, és az érintett oldali szövetek egyéni ischaemiás károsodása.

Study-nk során a könny VEGF szintek összefüggést mutattak a macula oedema mértékével, a CRT-vel is, melyet OCT segítségével határoztunk meg. Eredményeink hasonlóak más szerzők által közölt eredményekkel, akik azonban nem a könnyben, hanem a csarnokvízben, és az üvegtestben mutattak ki VEGF emelkedést RVO esetén. Ők is korrelációt találtak a csarnokvíz-, és az üvegtest VEGF szintek és a CRT értékek között RVO-s betegeken [4,17-19].

Noma és mtsai. arra a következtetésre jutottak, hogy a csarnokvíz és az üvegtest VEGF szintek és a macula oedema súlyossága között összefüggés lehet CRVO-ban [4]. Más szerzők ugyanilyen összefüggést igazoltak BRVO-s betegeken is [22].

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 (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 (3/a. ábra). 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 (3/a. ábra).

Hasonlóan a macula oedema nagysága, és az OCT-vel mérhető CRT értékek kezdetben növekedtek (V2), majd kismértékben csökkentek. A 7. beteg 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 (3/b. ábra).

5.2. DM betegek plazma sE-sel szintjei és a diabeteses retinopathia súlyossága közötti összefüggés

Számos tanulmány igazolta, hogy a solubilis adhaesiós molekulák szintje DM betegek estében emelkedett lehet [43-48]. A megemelkedett adhaesiós molekula szint fontos szerepet játszik a DM micro-, macroangiopathia és az atheroscleroticus vascularis betegségek, valamint a DM retinopathia kialakulásában is [53, 54-55, 58, 60]. Korábban több szerző közölte, hogy a DM betegek üvegtestjében az adhaesiós molekulák szintje megemelkedhet. [124-125].

A DM retinopathia gyakran társul microvascularis változásokkal és capillaris occlusióval [68]. A capillaris obstructio a DM retinopathia kialakulásának korai jele lehet, neovascularisatio kialakulásához vezethet [69, 102-103, 105].

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 a HT, ISZB és a HC.

A HbA1C szint szignifikánsan magasabb volt az összes DM betegeken a kontrollhoz képest. Az ISZB és a HT tekintetében hasonló szignifikáns eltérést találtunk az összes DM beteg és a kontroll csoport esetén. De nem találtunk ilyen összefüggést a HC tekintetében. Ha az összes DM beteg sE-sel szintjét összevetettük a kontrollhoz képest, akkor erőteljes szignifikáns különbséget kaptunk.

DM alcsoportokban („A”- „B”- „C”) a sE-sel szintek kezdetben emelkedő tendenciát mutatnak, majd proliferatív szakban enyhén csökkennek, bár az egyes alcsoportok között az eltérés nem volt szignifikáns.

Ha két nagy csoportot képezünk, és az egyikbe a nem DM-es páciensek, valamint azon diabeteses betegek kerülnek, akiknek még nincs retinopathiája („A” csoport), a másik

csoportba pedig a NPDR, valamint PDR („B” és „C” csoport) betegeit tesszük, és összehasonlítjuk ezen két csoport sE-sel szintjeit, akkor szignifikáns értékeket kapunk.

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy DM-ben az emelkedett sE-sel szinteknek szerepe lehet a DM retinopathia kialakulásában, de nem befolyásolja jelentősen a DM retinopathia súlyosságát.

Ezzel szemben a retinopathia súlyosságát a cardiovascularis rizikótényezők és az emelkedett HbA1C értékek viszont befolyásolhatják.

Azon DM betegeknél, akiknél szemfenéki diabeteses eltérés nem fordult elő („A” csoport), a sE-sel-, valamint a HbA1C értéke a DM fennállási idejének függvényében emelkedik, de ez az eltérés nem volt szignifikáns.

Ezen csoportban szignifikáns, negatív korreláció állt fenn a sE-sel szint és a HC között, azonban a sE-sel szintek nem korreláltak sem a HT-val, sem az ISZB-val.

A DM fennállási ideje és az ISZB között szignifikáns pozitív korreláció állt fenn, azonban hasonló korreláció nem igazolódott a DM fennállási ideje és a HT, valamint a HC között.

NPDR („B” csoport) betegek esetén a sE-sel szintek és a DM fennállási ideje, valamint a HbA1C értékei között nem találtunk korrelációt. Nem igazolódott korreláció a DM fennállási ideje és a HT, HC és az ISZB között sem.

A kísérőbetegségek közül szignifikáns pozitív korreláció áll fenn mind a „B”, mind a „C” csoportban a HC, és az ISZB tekintetében. Ezek az eredmények felvetik annak a lehetőségét, hogy a diabetes hosszas fennállási időtartama, és a súlyos, esetleg többszörös kísérőbetegségek társulása az emelkedett sE-sel szintekkel együttesen a retinopathia súlyosbodásához vezethet.

Vizsgálataink alapján feltételezhető, hogy a sE-sel szerepe a proliferatív stádiumban már kevésbé jelentős. Valószínűleg, az emelkedett sE-sel-nek csak a folyamat beindításában lehet szerepe („A” csoport). A későbbiekben, amikor már megjelenik a PDR, valószínűleg a VEGF-, és más vasoactiv tényezők elnyomják a sE-sel-ek hatását.

Eredményeink hasonlóak más szerzők eredményeihez, mint Boulbou és mtsai. által közölt eredményekkel. Munkacsoportjuk szignifikánsan magasabb sE-sel szinteket mért DM-ben. Nem találtak összefüggést a solubilis adhaesiós molekulák szintje és a retinopathia súlyossága között. Esetünkben a retinopathia mértékét szignifikánsan befolyásolta a DM fennállásának az időtartama [51].

Cominacini és mtsai. a HbA1C és a sE-sel szintje között pozitív korrelációt igazoltak [43].

Matsumoto és mtsai. szignifikánsan magasabb sE-sel szintet mértek, mind a microangiopathiás, mind a macroangiopathiás DM csoportban. Így az ő munkájuk is feltételezi, hogy a selectinek szintje befolyásolhatja a szövődmények kialakulási esélyét [45].

A mi munkánkkal ellentétben azonban nem vizsgálták az összefüggést a sE-sel-ek és a DM súlyossága között („A”-, „B”-, „C” csoport), valamint azt sem, hogy az egyes kísérő betegségek (HT, ISZB, HC) társulása befolyásolja-e a DM retinopathia súlyosságát.

Megállapíthatjuk, hogy a DM microangiopathia (retinopathia kialakulása) és a sE- sel szint emelkedése között összefüggés lehet. A DM retinopathia súlyosságát pedig inkább a cardiovascularis rizikófaktorok megléte ronthatja.

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 csökkentésére alkalmas lehet a sitagliptin, valamint a miglitol (150 mg/nap)

kezelés [126-128]. Fontos lehet a társbetegségek kezelése, mint pl. a HT, ISZB, HC. Ezzel késleltethetjük a DM retinopathia kialakulását, és esetleges súlyosbodását.

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.

7. SUMMARY

7.1. VEGF levels in tears of patients with RVO

7.1.1 Our pilot study could be a milestone establishing that tear analysis in RVO also has its role, as a non-invasive method that can be performed easier than the sampling of aqueous humour or vitreous body. In our pilot study we were able to detect VEGF in the tears of RVO patients; its level was significantly elevated in the affected eye compared to the fellow eye.

7.1.2. We found that the plasma VEGF levels of RVO patients at baseline were elevated in comparison to an age-matched control group, and that the difference was strongly significant.

7.1.3. In accordance with the elevation of VEGF level in tears, we found similar changes (retinal thickening) in the macula, which were represented as an increase in CRT on OCT maps. We were able to investigate the changes of VEGF levels in tears and the severity of macular oedema over time.

7.2. Correlation between plasma sE-sel level and the severity of retinopathy in DM patients

7.2.1. The sE-sel level in the plasma was significantly higher in patients with diabetes compared to controls. Dividing patients into groups by the presence of retinopathy, the sE-sel level was also significantly higher in the retinopathy group. When we examined diabetic patients by the severity of retinopathy (groups A, B and C, by the guidelines of the AAO),

however, we did not find any significant difference in sE-sel levels, although it tended to be higher in group B.

7.2.2. According to our study it seems that the increased sE-sel plays a pathogenetic role in the early stage of DM.

7.2.3. sE-sel levels showed significant increase until the retinopathy developed. However, it counts less in the development of proliferative retinopathy.

7.2.4. To summarize, the increased blood glucose, HbA1C, cardiovascular risk factors (HT, IHD, HC) and increased sE-sel as atherosclerotic agents play a role in the early stage of DM and the development of non-proliferative retinopathy. However, after the impairment of capillary endothelial cells and luminal narrowing these agents lose significance.

8. A TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

HASZNOSÍTHATÓSÁGA

8.1. RVO-s betegek könnyében lévő VEGF szint kimutatása

A könnyből történő VEGF kimutatása non-invazív módszer, mely a beteg számára nem megterhelő. A későbbiekben munkánkat folytatva, olyan könny VEGF szintek gyors meghatározása válhat elérhetővé, mely segítségével egyszerűen követhetjük a VEGF szintek változásait RVO-s betegeken. A teszt segítségével pontosan meghatározhatjuk RVO-s betegek anti-VEGF kezelésének ideális időpontját.

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

DM betegeken, emelkedett sE-sel szintek esetén, sitagliptin, valamint miglitol kezeléssel lehetőségünk lehet a sE-sel csökkentésére.

A cardiovascularis rizikótényezők, valamint a sE-sel szintek együttes terápiás csökkentése a DM retinopathia kialakulását és súlyosbodását késeltetheti.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Jonas JB., Bourne RR., White RA., Flaxmen SR., Keeffe J., Leasher J., Naidoo K., Pesudovs K., Price H., Wong TY., Resnokoff S., Taylor HR. (2014): Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Visual impairment and blindness due to macular diseases globally: a systematic review and meta-analysis. *Am J Ophthalmol* 158 (4): 808-815.
2. Ferrera N., Houck KA., Jakeman LB., Winer J., Leung DW. (1991): The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J Cell Biochem* 47:211-218.
3. Senger DR., Galli SJ., Dvorak AM., Perruzzi CA., Harvey VS, Dvorak HF. (1983): Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 219: 983-5.
4. Noma H., Funatsu H., Mimura T., Harino S., Hori S. (2010): Aqueous humor levels of vasoactive molecules correlate with vitreous levels and macular edema in central retinal vein occlusion. *Eur J Ophthalmol* 20 (2): 402-409.
5. Noma H., Funatsu H., Mimura T., Harino S., Sone T., Hori S. (2010): Increase of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of patients with macular oedema and central retinal vein occlusion. *Acta Ophthalmologica* 88: 646-651.
6. Gerwins P., Skoldenberg E., Claesson-Welsh L. (2000): Function of fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 34:185-194.
7. Larsson A., Skoldenberg E., Ericson H. (2002): Serum and plasma levels of FGF-2 and VEGF in healthy blood donors. *Angiogenesis* 5: 107-110.
8. Adamis AP., Shima DT., Yeo K-T., Yea TK., Brown LF., Berse B., D'Amore PA., Folkman J. (1993): Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 193: 631-638.
9. Guerrin M., Moukadi H., Chollet P., Moro F., Dutt K., Malecaze F., Plouet J. (1995): Vasculotropin/ vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor for human retinal pigment epithelial cells cultured in vitro. *J Cell Physiol* 164: 385-394.
10. Hata Y., Nakagawa K., Ishibashi T., Inomata H., Ueno H., Sueishi K. (1995): Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal glial cells promotes in vitro angiogenesis. *Virchows Arch* 426: 479-486.
11. Chan-Ling T., Keshet E. (1995): Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF): expression by neuroglia. *J Neurosci* 15: 4738-4747.

12. Bernarz J., Weich HA., Rodokanaki-von Schrenck A., Engelmann K. (1995): Expression of genes coding growth factors and growth factor receptors in differentiated and dedifferentiated human corneal endothelial cells. *Cornea* 14: 372-381.
13. van Setten G.B. (1997): Vascular endothelial growth factor (VEGF) in normal human corneal epithelium: Detection and physiological importance. *Acta Ophthalmol. Scand.* 75: 649-652.
14. Vesaluoma M., Teppo A-M., Grönhagen-Riska C., Tervo T. (1997): Release of TGF- β 1 and VEGF in tears following photorefractive keratectomy. *Curr. Eye Res.* 16: 19-25.
15. Roszkowska A.M., Grazia L., Visalli M., Mondello M., Teti D., Venza M., Venza I. (2013.): Contact lens wearing and chronic cigarette smoking positively correlate with TGF- β 1 and VEGF tears levels and impaired corneal wound healing after photorefractive keratectomy. *Curr. Eye Res.* 38 (3): 335-341.
16. Zakaria N., Van Grasdorff S., Wouters K., Rozema J., Koppen C., Lion E., Cools N., Berneman Z., Tassignon M-J. (2012.): Human tears reveal insights into corneal neovascularization. *PLoS One* 7 (5) e 36451.
17. Aiello LP., Northrup JM., Keyt BA., Takagi H., Iwamoto MA. (1995): Hypoxia regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 113: 1538-1544.
18. Gardner TW., Antonetti DA., Barber AJ., Lieth E., Tarbell JA. (1999): The molecular structure and function of the inner blood retinal barrier. Penn State Retina Research Group. *Doc Ophthalmol* 97: 229-237.
19. Viores SA., Derevjaniuk NL., Ozaki H., Okamoto N., Campochiaro PA. (1999): Cellular mechanisms of blood-retinal barrier dysfunction in macular oedema. *Doc. Ophthalmol* 97: 217-228.
20. Stahl A., Agostini H., Hansen LL., Feltgen N. (2007): Bevacizumab in retinal vein occlusion-results of a prospective case series. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 245 (10): 1429-36.
21. Noma H., Funatsu H., Yamasaki M., Tsukamoto H., Mimura T., Sone T., Jian K., Sakamoto I., Nakano K., Yamashita H., Minamoto A., Mishima HK. (2005): Pathogenesis of macular edema with branch retinal vein occlusion and intraocular levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6. *Am J Ophthalmol* 140: 256-261.
22. Yau JW., Rogers SL., Kawasaki R., Lamoureux EL., Kowalski JW., Bek T., Chen SJ, Dekker JM, Fletcher A, Grauslund J, Haffner S, Hamman RF, Ikram MK, Kayama T, Klein BE, Klein R, Krishnaiah S, Mayurasakorn K, O'Hare JP, Orchard TJ, Porta M, Rema M, Roy MS, Sharma T, Shaw J, Taylor H, Tielsch JM, Varma R, Wang JJ, Wang N, West S, Xu L, Yasuda M, Zhang X, Mitchell P, Wong TY; Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. (2012): Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 35:556-564.

23. Heng LZ., Comyn O., Peto T., Tadros C., Ng E., Sivaprasad S., Hykin PG. (2013): Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments. *Diabet. Med.* 30: 640-650.
24. Bhagat N., Grigorian RA., Tutela A., Zarbin MA. (2009) Diabetic Macular Edema: Pathogenesis and treatment. *Survey of Ophthalmology* 54 (1): 1-32.
25. Davis MD., Fisher MR., Gangnon RE., Barton F., Aiello LM., Chew EY., Ferris FL., Knatterud GL. (1998): Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 18. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 233-252.
26. Diabetic Retinopathy American Academy of Ophthalmology Retina Panel. 4 th printing 2012
27. Schröder S., Palinski W., Schmid-Schönbein GW. (1991): Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 139:81–100.
28. Scholl S., Kirchhof J., Augustin AJ. (2010): Pathophysiology of macular edema. *Ophthalmologica* 224 (1): 8-15.
29. Snow V., Weiss KB., Mottur-Pilson C. (2003): The evidence base for tight blood pressure control in the management of type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 138: 587-592.
30. van Leiden HA., Dekker JM., Moll AC., Nijpels G., Heine RJ., Bouter LM., Stehouwer CD., Polak BC. (2002): Blood pressure, lipids and obesity are associated with retinopathy: The Hoorn Study. *Diabetes Care* 25: 1320-1325.
31. Klein R., Sharrett AR., Klein BE., Moss SE., Folsom AR., Wong TY., Brancati FL., Hubbard LD., Couper D., ARIC Group (2002): The association of atherosclerosis, vascular risk factors, and retinopathy in adults with diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Ophthalmology* 109:1225-1234.
32. Lyons TJ., Jenkins AJ., Zheng D., Lackland DT., McGee D., Garvey T., Klein RL. (2004): Diabetic retinopathy and serum lipoprotein subclasses in the DCCT/EDIC cohort. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 910-918.
33. Kriska AM., La Porte RE., Patrick SL., Kuller LH, Orchard TJ. (1991): The association of physical activity and diabetic complications in individuals with insulin-dependent diabetes mellitus: the Epidemiology of Diabetes Complications Study—VII. *J Clin Epidemiol* 44: 1207-1214.

34. Huang KS., Graves BJ., Wolitzky BA. (1997): Functional analysis of selectin structure. Edited by D. Vestweber. Amsterdam: Harwood vol.3, p: 1-29.
35. Tedder TF., Steeber DA., Chen A., Engel P. (1995): The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J.* 9:866-873.
36. Gress TW., Nieto FJ., Shahar E., Wofford MR., Brancati FL. (2000): Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus: atherosclerosis risk in communities study. *N Engl J Med* 342: 905-912.
37. Boulbou MS., Koukoulis GN., Makri ED., Petinaki EA., Gourgoulis KI., Germeis AE. (2005): Circulating adhesion molecules levels in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *International Journal of Cardiology* 98: 39-44.
38. Ferri C., Desideri G., Baldoneini R. et al. (1998): Early activation of vascular endothelium in nonobese, nondiabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities. *Diabetes* 47: 660-667.
39. De Caterina R., Ghiadoni L., Taddei S., Virdis A., Almerigogna F., Basta G. (2001): Soluble E-selectin in essential hypertension: a correlate of vascular structural changes. *Am J Hypertens* 14: 259-266.
40. Buemi M., Allegra A., Aloisi C., Corica F., Alonsi A., Ruello A., Montalto G, Frisina N. (1997): Cold pressor test raises serum concentrations of ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin in normotensive and hypertensive patients. *Hypertension* 30: 845-847.
41. Blann AD., Tse W., Maxwell SJ., Waite MA. (1994): Increased levels of the soluble adhesion molecules E-selectin in essential hypertension. *J Hypertens* 12: 925-928.
42. Steiner M., Reinhardt MK., Krammer B., Ernst B., Blann AD. (1994): Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus are independent of glycaemic control. *Thromb Haemostas* 72:979-984.
43. Cominacini L., Pasini AF., Garbin U., Davoli A., De Santis A., Campagnola M., Rigoni A., Zenti MG., Moghetti P., Lo Cascio V. (1995): Elevated levels of soluble E-selectin in patients with IDDM and NIDDM: relation to metabolic control. *Diabetologia* 38 (9):1122-1124.
44. Blüher M., Unger R., Rassoul F., Richter V., Paschke R. (2002): Relation between glycaemic control, hyperinsulinaemia and plasma concentrations of soluble adhesion molecules in patients with impaired glucose tolerance or Type II. diabetes. *Diabetologia* 45:210-216.
45. Matsumoto K., Sera Y., Nakamura H., Ueki Y., Miyake S. (2002): Serum concentrations of soluble adhesion molecules are related to degree of hyperglycaemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 55: 131-138.

46. Fasching P., Waldhausl W., Wagner OF. (1996): Elevated circulating adhesion molecules in NIDDM. Potential mediators in diabetic macroangiopathy. *Diabetologia* 39: 1242-1244.
47. Ceriello A., Falleti E., Bortolotti N., Motz E., Cavarape A., Russo A., Gonano F., Bartoli E. (1996): Increased circulating intercellular adhesion molecule-1 levels in type II diabetic patients. The possible role of metabolic control and oxidative stress. *Metabolism* 45: 498-501.
48. Cominacini L., Pasini AF., Garbin U., Campagnola M., Davoli A., Rigoni A., Zenti MG., Pastorino AM, Lo Cascio V. (1997): E-selectin plasma concentration is influenced by glycaemic control in NIDDM patients. Possible role of oxidative stress. *Diabetologia* 40: 584-589.
49. Albertini JP., Valensi P., Lormeau B., Aurousseau MH., Ferriere F., Attali JR., Gategno L. (1998): Elevated concentrations of soluble E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 in NIDDM: effect of intensive insulin treatment. *Diabetes Care* 21:1008–1013.
50. Ryysy L., Yki-Jarvinen H. (2001): Improvement of glycemic control by 1 year of insulin therapy leads to a sustained decrease in sE-selectin concentrations in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 24:549–554.
51. Boulbou MS., Koukoulis GN., Petinaki EA., Germenis A., Gourgoulisanis KI. (2004): Soluble adhesion molecules are not involved in the development of retinopathy in type 2 diabetic patients. *Acta Diabetol.* 41 (3): 118-122.
52. Otsuki M., Hashimoto K., Morimoto Y., Kishimoto T., Kasayama S. (1997): Circulating vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in atherosclerotic NIDDM patients. *Diabetes* 46: 2096-2101.
53. Baybek N., Kargili A., Kaftan O., Karakurt F., Kosar A., Akcay A. (2007): Elevated concentrations of soluble adhesion molecules and large platelets in diabetic patients: are they markers of vascular disease and diabetic nephropathy? *Clin Appl Thromb Hemost* 13 (4): 391-397.
54. Hwang SJ., Ballantyne CM., Sharrett AR., Smith LC., Davis CE., Gotto AM. Jr., Boerwinkle E. (1997): Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronar heart disease cases. *Circulation* 96: 4219-4225.
55. Jager A., Hinsbergh VWM., Kostense PJ., Emeis JJ., Nijpels G., Dekker JM., Heine RJ., Bouter LM., Stehouwer CDA. (2000): Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes. The Hoorn Study. *Diabetes* 49: 485-491.
56. Matsumoto K., Sera Y., Ueki Y., Inukait G., Niirio E., Miyake S. (2002): Comparison of serum concentrations of soluble adhesion molecules in diabetic microangiopathy and macroangiopathy. *Diabetic Medicine* 19: 822-826.
57. Fasching P., Veitl M., Rohac M., Streli C., Schneider B., Waldhausl W., Wagner OF. (1996): Elevated concentrations of circulating adhesion molecules and their association with

microvascular complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4313–4317.

58. Olson JA., Whitelaw CM., McHardy KC., Pearson DWM., Forrester JV. (1997): Soluble leukocyte adhesion molecules in diabetic retinopathy stimulate retinal capillary endothelial cell migration. *Diabetologia* 40: 1166-1171.

59. Knudsen ST., Foss CH., Poulsen PL., Bek T., Ledet T., Mogensen CE., Rasmussen LM. (2003): E-selectin inducing activity in plasma from type 2 diabetic patients with maculopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E1–E6

60. Koga M., Otsuki M., Kubo M., Hashimoto J., Kasayama S. (1998): Relationship between circulating vascular cell adhesion molecule-1 and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 15:661–667.

61. Hackman A., Abe Y., Insull Jr. W., Pownall H., Smith L., Dunn K., Gotto Jr. AM., Ballantyne CM. (1996): Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidaemia. *Circulation* 93: 1334-1338.

62. Blann AD., McCollum CN. (1994): Circulating endothelial cell leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 72: 151-154.

63. De Almeida-Pititto B., Ribeiro-Filho FF., Bittencourt MS., Lotufo PA., Bensenor I., Ferrera SR. (2016): Usefulness of circulating E-selectin to early detection of the atherosclerotic process in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Diabetol Metab Syndr* 8: 19.

64. Matsumoto K., Fujishima K., Moriuchi A., Saishoji H., Ueki Y. (2010): Soluble adhesion molecule E-selectin predicts cardiovascular events in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental* 59: 320-324.

65. Huang Z., Yin Q., Sun W., Zhu W., Li Y., Liu W., Xiao L., Duan Z., Cai Q., Liu D., Ma M., Liu X. (2013): Microbleeds in ischemic stroke are associated with lower serum adiponectin and higher soluble E-selectin levels. *J Neurol Sci* 334 (1-2): 83-87.

66. Richard S., Lagerstedt L., Burkhard PR., Debouverie M., Turck N., Sanchez J. (2015): E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-month outcome in cerebrovascular diseases. *Journal of Inflammation* 12: 61.

67. Odegaard AO., Jacobs DR. Jr., Sanchez OA., Goff DC Jr., Reiner AP., Gross MD. (2016): Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 15: 51.

68. Davis MD. (1992): Diabetic retinopathy: a clinical overview. *Diab Care* 15: 1844-1874.

69. Dobbie JG., Kwann HC., Colwell J., Suwanwela N. (1974): Role of platelets in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 91: 107-109.

70. Kappelmayer J., Nagy B. Jr., Miszti-Blasius K., Hevessy Zs., Setiadi H. (2004): The emerging value of P-selectin as a disease marker. *Clin Chem Lab Med* 42: 475-486.

71. Andre P., Hartwell D., Hrachivinova I., Saffaripour S., Wagner DD. (2000): Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. *Proc Natl Acad Sci USA* : 13835-13840.
72. Zimmerman GA. (2001): Two by two: the pairings of P-selectin and P-selectin glycoprotein ligand 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(18):10023-4.
73. Minamino T., Kitakaze M., Asanuma H., Ueda Y., Koretsune Y., Kuzuya T., Hori M. (1999): Plasma adenosine levels and platelet activation in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 83: 194-198.
74. Gearing AJH., Newman W. (1993): Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 14: 506-512.
75. Verhaar MC., Beutler JJ., Gaillard CA., Koomans HA., Fijnheer R., Rabelink TJ. (1998): Progressive vascular damage in hypertension is associated with increased levels of circulating P-selectin. *J Hypertens* 16: 45-50.
76. Aref S., Sakrana M., Hafez AA., Hamdy M. (2005): Soluble P-selectin levels in diabetes mellitus patients with coronary artery disease. *Hematology* 10: 183-187.
77. Lim HS., Blann AD., Lip GYH. (2004): Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: Relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. *Circulation* 109: 2524-2528.
78. Body R., Pemberton P., Ali F., McDowell G., Carley S., Smith A., Mackway-Jones K. (2011): Low soluble P-selectin may facilitate early exclusion of acute myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* 412: 614-618.
79. Blann AD., Nadar SK., Lip GYH. (2003): The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. *European Heart Journal* 24: 2166-2179.
80. Chung I., Choudhury A., Patel J., Lip GYH. (2009): Soluble, platelet-bound, and total P-selectin as indices of platelet activation in congestive heart failure. *Ann Med* 41: 45-51.
81. Hollander JE., Muttreja MR., Dalesandro MR., Shofer FS. (1999): Risk stratification of emergency department patients with acute coronary syndromes using P-selectin. *J Am Coll Cardiol* 34: 95-105.
82. Weikert U., Kuhl U., Schultheiss HP., Rauch U. (2002): Platelet activation is increased in patients with cardiomyopathy: myocardial inflammation and platelet reactivity. *Platelets* 13: 487-491.
83. Grau AJ., Ruf A., Vogt A., Lichy C., Bugge F., Patscheke H., Hacke W. (1998): Increased fraction of circulating activated platelets in acute and previous cerebrovascular ischaemia. *Throm Haemost* 80: 298-301.

84. Zeller JA., Tschoepe D., Kessler C. (1999): Circulating platelets show increased activation in patients with acute cerebral ischaemia. *Thromb Haemost* 81: 373-377.
85. Marquardt L., Ruf A., Mansmann U., Winter R., Schuler M., Bugge F., Mayer H., Grau AJ. (2002): Course of platelet activation markers after ischaemic stroke. *Stroke* 33: 2570-2574.
86. Frijns CJM., Kappelle LJ., van Gijn J., Nieuwenhuis HK., Sixma JJ., Fijnheer R. (1997): Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis. *Stroke* 28: 2214-2218.
87. Bath PMW., Blann A., Smith N., Butterworth RJ. (1998): Von Willebrand factor, P-selectin and fibrinogen levels in patients with acute ischaemic and haemorrhagic stroke, and their relationship with stroke sub-type and functional outcome. *Platelets* 9: 155-159.
88. Robless PA., Okonko D., Lintott P., Mansfield AO., Mikhailidis DP., Stansby GP. (2003): Increased platelet aggregation and activation in peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 25: 16-22.
89. Zieger F., Stephan S., Hoheisel G., Pfeiffer D., Ruehlmann C., Koksche M. (2000): P-selectin expression, platelet aggregates, and platelet-derived microparticle formation are increased in peripheral arterial disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 11: 723-728.
90. Bröijersén A., Karpe F., Hamsten A., Goodall AH., Hjerdahl P. (1998): Alimentary lipemia enhances the membrane expression of platelet P-selectin without affecting other markers of platelet activation. *Atherosclerosis* 137: 107-113.
91. Cipollone F., Mezzetti A., Porreca E., Di Febbo C., Nutini M., Fazia M., Falco A., Cuccurullo F., Davi G. (2002): Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation* 106: 399-402.
92. Garlischs CD., John S., Schmeisser A., Eskafi S., Stumpf C., Karl M., Goppelt-Strube M., Schmieder R., Daniel WG. (2001): Upregulation of CD40 and CD40 ligand (CD154) in patients with moderate hypercholesterolemia. *Circulation* 104: 2395-2400.
93. Davi G., Romano M., Mezzetti A., Procopio A., Iacobelli S., Antidormi T., Bucciarelli T., Alessandrini P., Cuccurullo F., Bon GB. (1998): Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 97: 953-957.
94. Jilka B., Fasching P., Ruthner C., Rumplmayr A., Ruzicka S., Kapiotis S., Wagner OF., Eichler HG. (1996): Elevated circulating P-selectin in insulin dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 76: 328-332.
95. Nagy B. Jr., Csongradi E., Bhattoa HP., Balogh I., Blasko G., Paragh G., Kappelmayer J., Kaplar J. (2007): Investigation of Thr715Pro P-selectin gene polymorphism and soluble P-selectin levels in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 98: 186-191.

96. Tschoepe D., Driesch E., Schwippert B., Nieuwenhuis HK., Gries FA. (1995): Exposure of adhesion molecules on activated platelets in patients with newly diagnosed IDDM is not normalized by near-normoglycaemia. *Diabetes* 44: 890-894.
97. Nomura S., Suzuki M., Katsura K., Xie GL., Miyazaki Y., Miyake T., Kido H., Kagawa H., Fukuhara S. (1995): Platelet-derived microparticles may influence the development of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 116: 235-240.
98. Jude EB., Abbott CA., Young MJ., Anderson SG., Douglas JT., Boulton AJM. (1998): The potential role of cell adhesion molecules in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 41: 330-336.
99. McLeod DS., Lefer DJ., Merges C., Luty GA. (1995): Enhanced expression of intracellular adhesion molecule-1 and P-selectin in the diabetic human retina and choroid. *Am J Pathol.* 147: 642-653
100. Carter AM., Grant PJ. (1997): Vascular homeostasis, adhesion molecules, and macrovascular disease in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabet Med* 14:423-432
101. Blann AD., Lip GYH. (1998): Endothelial integrity, soluble adhesion molecules and platelet markers in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 15: 634-642
102. Ogata N., Imaizumi M., Nomura S., Shozu A., Arichi M., Matsuoka M., Matsumura M. (2005): Increased levels of platelet-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 68: 193-201.
103. Ogata N., Nomura S., Shouzu A., Imaizumi M., Arichi M., Matsumura M. (2006): Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 73: 241-248.
104. Nomura S., Shouzu A., Omoto S., Hayakawa T., Kagawa H., Nishikawa M., Inada M., Fujimura Y., Ikeda Y., Fukuhara S. (1998): Effect of cilostazol on soluble adhesion molecules and platelet derived microparticles in patients with diabetes. *Thromb Haemost* 80: 388-392.
105. Kaplar M., Kappelmayer J., Veszpremi A., Szabo K., Udvardy M. (2001): The possible association of in vivo leukocyte-platelet heterophilic aggregate formation and the development of diabetic angiopathy. *Platelets* 12:419-422.
106. Lampeter ER., Kishimoto TK., Rothlein R., Mainolfi EA., Bertrams J., Kolb H., Martin S. (1992): Elevated levels of circulating adhesion molecules in IDDM patients and in subjects at risk for IDDM. *Diabetes* 41: 1668-1671.
107. Burger PC., Wagner DD. (2003): Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood* 101: 2661-2666.
108. Koyama H., Maeno T., Fukumoto S., Shoji T., Yamane T., Yokoyama H., Emoto M., Shoji T., Tahara H., Inaba M., Hino M., Shioi A., Miki T., Nishizawa Y. (2003): Platelet P-

selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation* 108: 524-529.

109. Taimeh Z., Loughran J., Briks EJ., Bolli R. (2013): Vascular endothelial growth factor in heart failure. *Nature Reviews Cardiology* 10: 519-530.

110. Kimura K., Hashiguchi T., Deguchi T., Horinouchi S., Uto T., Oku H., Setoyama S., Maruyama I., Osame M., Arimura K. (2007): Serum VEGF-A a prognostic factor of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 194: 182-188.

111. Khurana R., Simons M., Martin J., Zachary IC. (2005): Role of angiogenesis in cardiovascular disease. *Circulation* 112: 1813-1824.

112. Ma Y., Zechariah A., Qu Y., Hermann DM. (2012): Effects of vascular endothelial growth factor in ischemic stroke. *J. Neurosci. Res.* 90: 1873-1882.

113. Maurotti N., Annese T., Cantatore FP., Ribatti D. (2013): Macrophages and angiogenesis in rheumatic diseases. *Vascular Cell.* 5: 11.

114. Hendriksen EM., Span PN., Schuurin J., Peters JPW., Sweep FCGJ., van der Kogel AJ., Bussink J. (2009): Angiogenesis, hypoxia and VEGF expression during tumour growth in a human xenograft tumour model. *Microvascular Research* 77: 96-103.

115. Mysliwiec M., Balcerska A., Zorena K., Mysliwska J., Lipowski P., Raczynska K. (2008): The role of vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 79 (1): 141-146.

116. Ascaso FJ., Huerva V., Grzybowski A. (2014): The role of inflammation in the pathogenesis of macular edema secondary to retinal vascular diseases. *Mediators of Inflammation* Article ID: 432685.

117. Bertelmann T., Schulze S., Bölöni R., Sekundo W., Irle S., Stief T., Mennel S. (2014): Intravitreal vascular endothelial growth factor. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 252: 583-588.

118. Funk M., Kriechbaum K., Prager F., Benesch T., Georgopoulos M., Zlabinger GJ., Schmidt-Erfurth U. (2009): Intraocular concentrations of growth factors and cytokines in retinal vein occlusion and the effect of therapy with bevacizumab. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 50 (3): 1025-1032.

119. Noma H., Funatsu H., Mimura T., Hirano S., Hori S. (2009): Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in macular edema with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 116 (1): 87-93.

120. Koss MJ., Pfister M., Rothweiler F., Michaelis M., Cinatl J., Schubert R., Koch FH. (2012): Comparison of cytokine levels from undiluted vitreous of untreated patients with retinal vein occlusion. *Acta Ophthalmol.* 90: 98-103.

121. Noma H., Minamoto A., Funatsu H., Tsukamoto H., Nakano K., Yamashita H., Mishima HK. (2006): Intravitreal levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 are correlated with macular edema in branch retinal vein occlusion. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 244 (3): 309-315.
122. Noma H., Shimizu H., Mimura T. (2013): Unilateral macular edema with central retinal vein occlusion in systemic lupus erythematosus: a case report. *Clinical Ophthalmology* 7: 865-867.
123. Boyd SR., Zachary I., Chakravarthy U., Allen G., Wisdom GB., Cree IA., Martin JF., Hykin PG. (2002): Correlation of increased vascular endothelial growth factor with neovascularisation and permeability in ischemic central vein occlusion. *ArchOphthalmol* 120: 1644-1650.
124. Limb GA., Hickman-Casey J., Hollifield RD., Chigneli AH. (1999): Vascular adhesion molecules in vitreous from eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:2453–2457.
125. Tang S., Le-Ruppert KC., Gabel VP. (1994): Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) on proliferating vascular endothelial cells in diabetic epiretinal membranes. *Br J Ophthalmol* 78:370–376.
126. Omoto S., Taniura T., Nishizawa T., Tamaki T., Shouzu A., Nomura S. (2015): Anti-atherosclerotic effects of sitagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy* 8: 339-345.
127. Nomura S., Omoto S., Yokoi T., Fujita S., Ozasa R., Eguchi N., Shouzu A. (2011): Effects of miglitol in platelet-derived microparticle, adiponectin, and selectin level in patients with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of General Medicine* 4: 539-545.
128. Tremblay AJ., Lamarche B., Deacon CF., Weisnagel SJ., Couture P. (2014): Effects of sitagliptin therapy on markers of low-grade inflammation and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 63:1141-8.

10. KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁR ÁLTAL HITELESÍTETT PUBLIKÁCIÓS LISTA



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., Reznek, 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., Reznek, I., Damjanovich, J., Berta, A., Pfliegler, 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 alapjául szolgáló közleményekre): 3,982

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

Debrecen, 2017.03.13.



11.TÁRGYSZAVAK

Occlusio Venae Centralis Retinae (RVO); vascularis endothelialis növekedési factor (VEGF); könny film; centrális retina vastagság (CRT).

Diabeteses retinopathia; solubilis E-selectin (sE-sel); endothel sejt dysfunkció.

12. KEY WORDS

Retinal vein occlusion (RVO); vascular endothelial growth factor (VEGF); tear fluid; central retinal thickness (CRT).

Diabetic retinopathy; soluble E-selectin (E-sel); endothelial cell dysfunction.

13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Nagy Valéria egyetemi docensnőnek, aki munkámat folyamatosan figyelemmel kísérte, messzemenően támogatta és mindenben segítséget nyújtott.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Berta András egyetemi tanárnak, hogy a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szemklinikáján lehetővé tette és támogatta a munkám elvégzését.

Köszönöm Dr. Nagy Béla Jr. egyetemi adjunktus úrnak, valamint Dr. Bíró Liliánának a klinikai kémiai és molekuláris vizsgálatok elvégzését, Dr. Szalai Eszternek a statisztikai vizsgálatokban nyújtott segítségét, valamint Dr. Ujhelyi Bernadettnek a munkámhoz kapcsolódó hasznos tanácsait, észrevételeit.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretném megköszönni a Családomnak, hogy munkám során mindvégig mellettem álltak, és biztosították számomra azt a háttérrel, amely nélkül ez a munka, nem születhetett volna meg.

14. FÜGGELÉK

ELŐADÁSOK

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

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.