

EGYETEMI DOKTORI (PhD) TÉZISEK

**FOTOSTRESSZ OKOZTA RETINA DEGENERÁCIÓ ÉS AZ AZT
BEFOLYÁSOLÓ ANTIOXIDATÍV, HORMONÁLIS ÉS
KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN**

Dr. KÁLDI ILDIKÓ

**KENÉZY GYULA KÓRHÁZ-RENDELŐINTÉZET, SZEMÉSZETI OSZTÁLY,
DEBRECEN
DEAN A. MCGEE EYE INSTITUTE, OKLAHOMA CITY, OK, USA**

Debrecen, 2005.

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Fotostressz okozta retina degeneráció és az azt befolyásoló antioxidatív,
hormonális és környezeti tényezők**

Dr. Káldi Ildikó

Témavezetők:

Dr. Berta András egyetemi tanár

Prof. Dr. Robert E. Anderson

Kenézy Gyula Kórház-Rendelőintézet, Szemészeti Osztály, Debrecen

Dean A. McGee Eye Institute, Oklahoma City, OK, USA

1. BEVEZETÉS

A retinitis pigmentosa (RP) progresszív, örökletes retinadegenerációk heterogén csoportja, melynek prevalenciája a fejlett országokban kb. 1:3000. A betegség szürkületi vaksággal és a pálcikák pusztulásának következtében kialakuló koncentrikus, perifériás látótérszűkülettel kezdődik. Az ERG kóros, a fundus perifériáján kezdődő, szabálytalan pigmentfelhalmozódás látható. A folyamat előrehaladtával, a csapok pusztulását követően, a látótér teljesen kiesik, a beteg megvakul.

1966-ban Noell és munkatársai felismerték, hogy konstans, erős fénynek kitett albínó patkányok retinájában súlyos retinaelfajulás alakult ki. Ebben az állatmodellben és az örökletes retinadegenerációkban a fotoreceptorok pusztulásának “végső, közös útja” az apoptózis. Ez a magyarázata annak, hogy az állatmodelleket széles körben alkalmazzák a retinitis pigmentosában lezajló sejtpusztulás mehanizmusának tanulmányozására.

Korábbi vizsgálatokban azt találták, hogy az N^G -nitro-L-arginin-metilészter (L-NAME), mely a nitrogénoxid-szintetáz enzim (NOSZ) kompetitív inhibitora, kivédte a retina erős fény okozta degenerációját. A NOSZ-enzimek L-argininből szintetizálják a nitrogénoxidot, melynek során citrullin és a szabadgyök nitrogén oxid (NO) keletkezik. A NOSZ izoenzimeit kimutatták a retinában és valószínűleg a neuronális NOSZ felelős a fotoreceptorokban és a bipoláros sejtekben lejátszódó NO termeléséért.

Irodalmi adatok szerint a női nemi hormonok mind emberen, mind in vivo állatkísérletekben védelmet nyújtanak cardiovascularis, neurovascularis és egyéb idegrendszeri betegségek ellen. Premenopauzában levő nőknél alacsonyabb az agyvérzés incidenciája, posztmenopauzában az ösztrogén terápia csökkentette a szívbetegség rizikóját. A hormonális hatások szerepét a fotostressz okozta fotoreceptor pusztulásban is tanulmányozták. A nőstény albínó patkányokat a pubertás előtt vagy ovariectomizálták (OVEX), vagy hypophysectomizálták (HYPEX). A retina fénykárosodása az OVEX és a HYPEX állatokban szignifikánsan kisebb mértékű volt, mint a kontroll állatokban. Ugyanakkor 100 µg esztradiol benzoát adagolása jobban csökkentette a retina károsodását, mint az ovariectomia önmagában. A progeszteron adagolás (2.5 mg/nap) önmagában nem fejtett ki hatást a fotostressz okozta fotoreceptor pusztulásra. Egy új

ösztadiol analog, a MITO-4565 intravitreálisan adagolva cytoprotektívnek bizonyult S334ter patkányokban.

Számtalan tényező befolyásolja, hogy a fénystressz milyen mértékű retinakárosodást okoz. Az egyik ilyen külső körülmény az, hogy az állat az expozíció előtt milyen fényviszonyok között tartózkodott. A világosban nevelt, vagy felnőttkorban ahhoz adaptált patkányok védelmet élveznek a sötétben/félhomályban tartott társaikhoz képest. A két csoport tanulmányozása során számos biokémiai és morfológiai eltérést találtak. Ezek az adaptáció jelei és néhány hét alatt megszűnnek, ha az állatokat ellenkező fényviszonyok közé helyezük át. A retina degenerációk kutatásában az egerek alkalmazásának számos előnye van. Génállományuk könnyen manipulálható és a Mouse Genome Project-en keresztül óriási mennyiségű információhoz lehet hozzá férni. Ez a magyarázata annak, hogy a megvilágítási környezet hatására, fokozott vagy csökkent mértékben termelt neuroprotektív faktorok vizsgálatánál egereket alkalmaztunk.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Célunk retina degeneráció során a fotoreceptorokban lejátszódó mechanizmusok pontosabb megértése volt. Két kémiai anyag adagolásával, illetve az állatok környezeti fényviszonyainak megváltoztatásával megpróbáltuk megállítani, illetve lassítani ezt a folyamatot.

2.1 Az antioxidatív L-NAME protektív hatásának vizsgálata vad típusú és rodopszin mutációban szenvedő albínó patkányokban:

korábbi közlemények arról számoltak be, hogy az L-NAME, a NOSZ inhibitora megvédte az albínó patkányok retináját az erős fény okozta degenerációtól. Célunk kettős volt, a fenti eredményének megerősítése és annak vizsgálata, hogy ez a protektív hatás kiterjed-e retina degenerációban szenvedő állatokra is.

2.2 A progeszteron neuroprotektív hatását teszteltük hím albínó patkányokban:

humán statisztikai adatok és állatkísérletes adatok támasztják alá a női nemihormonok védő hatását cardiovascularis, cerebrovascularis és egyéb neurológiai betegségekben.

Kísérletes körülmények között, erős, folyamatos (korábbi kísérletekben a pálcikák apoptózisát okozó) fényhatásnak kitett hím, albínó patkányokban vizsgáltuk, vajon ez a hatás kiterjed-e a retinában lejátszódó fotoreceptor pusztulásra is.

2.3 A környezeti fényviszonyok befolyását elemeztük a retina degeneráció súlyosságában:

irodalmi adatok szerint az erős ciklikus megvilágításban nevelkedett albínó patkányok védettek a fénystressz okozta apoptózissal szemben. Jelenlegi munkánkban azt vizsgáltuk, fenn áll-e ez az effektus albínó egereknél is.

3. MÓDSZEREK

3.1 Fotostressz kivitelezése

3.1.1 *L-NAME védelem:* 5 hetes albínó patkányok egyik csoportját 24 órán át tartó, 2700 lux intenzitású fénystressznek tettünk ki, a kontroll csoport az eredeti félhomályos fényviszonyok között maradt. Az expozíció előtt 30 perccel mindkét csoport egyik fele 100mg/kg L-NAME-t, a másik fele ugyanannyi inaktív izomert kapott ip. A fotostressz megkezdése előtt ill. annak befejezése után ERG vizsgálatokat végeztünk, a kísérlet végén a patkányok bulbusait enucleáltuk.

3.1.2 *Progeszteron védelem:* Az albínó patkányok közül az endogén progeszteron szintézis hatásának kiküszöbölésére 5 hetes korban a hím állatokat választottuk ki. Az állatokat kétfelé osztottuk. Minden csoportban az állatok fele intraperitoneálisan progeszteront (60mg/kg), a másik fél csak vivőanyagot kapott 4 napon át. A 3. injekciót 30 perccel a fénystressz megkezdése előtt, a negyediket közvetlenül annak befejezése után adtuk. A kontroll állatokat azonos időpontokban injekcióztuk, de végig a félhomályos helyiségben maradtak. A fénystressz 24 óráig tartott, 2700 lux fényerősséggel. A kiindulási ERG-eket 4 nappal a szer adagolásának megkezdése előtt, a követésez vizsgálatokat pedig 5 nappal a fénystressz befejezése után regisztráltuk. Ezután a szemeket enucleáltuk.

3.1.3 *Környezeti fényviszonyok szerepe:* A BALB/c egereket tenyésztettünk ciklikus félhomályban (5 lux). 1 hetes korban az almok felét áttettük világos ciklikus megvilágításba (400 lux). 5 hetes korban mind a félhomályban, mind a világosban tartott egércsoportot 2 részre osztottuk. A fotostressznek kitett állatok 72 órát töltöttek 3000 lux megvilágításban. A kontrollcsoport egyedei mindvégig az eredeti félhomályos ill. világos szobában maradtak. A fényexpozíció után a bulbusokat enucleáltuk.

3.2 P23H és S334ter transzgén patkányok vizsgálata

Állatistálónkban 400 lux ciklikus megvilágítás alatt transzgén patkányok születtek és nevelkedtek. 3 hetes korukban a VT, P23H és S334ter típusú állatokat 2-2 csoportra osztottuk, az egyiknek L-NAME-et, a másiknak D-NAME-t adtunk. A szert naponta, intraperitoneális injekció (100mg/kg) formájában és az ivóvízhez keverve (naponta átlagosan 40mg/kg) kapták 4 héten át. Az adagolás befejezése után ERG vizsgálatot végeztünk és 3 nappal később a bulbusokat enucleáltuk.

3.3 Elektroretinográfia

A sötét-adaptált patkányokat gyenge vörös fény alatt elaltattuk, a pupillát megtágítottuk. A Ganzfeld gömbben hatvan secundumos intervallumokkal, emelkedő intenzitással 5 fényfelvillanást alkalmaztunk (-40 dB, -24 dB, -8 dB, 0 dB, 10 dB).

3.4 Szövetteni vizsgálat

Az enucleált bulbusokat paraformaldehidbe helyeztük, majd paraffinba ágyztuk. A vertikális meridián mentén, a papilla n. optici-n áthaladó, 5 μ m vastag metszeteket készítettünk, melyeket haematoxylin-eosinnal megfestettünk. Azokban a kísérletekben, ahol patkányokkal dolgoztunk a külső magvas réteg (KMR) vastagságát és a pálcikák belső (PBSZ) és külső (PKSZ) szegmensének hosszát mértük meg 0.5 mm-es távolságokban a papillától kiindulva az alsó és a felső ora serrataig. Az egérszemeken ugyanezeket a paramétereket mértük meg, de 0.33 mm-es távolságokban.

3.5 A retina kipeparálása

Mindkét szem retináját tompán lepreparáltuk a pigmentepithelium/choroidea/sclera rétegről. Az ideghártyát ezután -80°C -on tároltuk a mérések megkezdéséig.

3.6 Terminal dUTP nick end labeling (TUNEL) assay

A retinális sejtek apoptózisát TUNEL assay segítségével mutattuk ki 5 μ m vastag, paraffinba ágyazott metszeteken.

3.7 A DNS-létra (laddering) vizsgálata

A retinát lízis-pufferben (50mM Tris-HCl (pH 8.0), 10mM EDTA, 0.5% SDS és 0.5mg/ml proteináz K) homogenizáltuk. A homogenizátumokat fenol/kloroformmal extraháltuk, így eltávolítva a fölösleges fehérjét. A kontaminált RNS emésztését úgy végeztük, hogy inkubáltuk 20 μ g/ml RNáz A-val 2 órán át 37 °C-on. Végül a genomialis DNS-t 0.5 μ g/ml etidium bromidot tartalmazó 2%-os agaróz gélen futtattuk.

3.8 Zsír-sav-meghatározás

Diszkontinuus szukróz gradiens centrifugálás segítségével minden pár retinából kipreparáltuk a pálcikák külső szegmensét (PKSZ). A pálcikák külső szegmensének total lipidtartalmának zsír-sav komponensét gáz-likvid kromatográfiával határoztuk meg

3.9 Statisztikai analízis

Minden esetben az átlag \pm S.D értékeket tüntettük fel. Páratlan t-tesztet használtunk a különböző csoportok ERG és szövettani eredményeinek összehasonlítására és páros t-tesztet alkalmaztunk ugyanazon állat kiindulási és követéses ERG tesztjeinek összehasonlítására. Valamennyi esetben a 0,05 alatti p értékeket nyilvánítottunk szignifikánsnak. A zsír-savtartalom analízisére Scheffé tesztet használtunk.

4. EREDMÉNYEK

4.1 L-NAME adagolásával végzett vizsgálatok

4.1.1 Akut fénystressz alkalmazása

A 24 óráig tartó, 2700 lux intenzitású illumináció az ERG válaszok szignifikáns csökkenését okozta mindkét exponált csoportban. A funkciókárosodás kisebbnek tűnt az L-NAME csoportjában, de a különbség a fénystresszelt, D-NAME-mel kezelt és fénystresszelt, L-NAME-mel kezelt patkányok ERG válaszai között nem volt szignifikáns. A fénystressz a fotoreceptorok számának szignifikáns csökkenéséhez vezetett mindkét drog adása mellett, de az L-NAME-mel kezelt állatoknál kisebb a veszteség. A pusztulás a felső félen volt súlyosabb. Minden állatnál kiszámoltuk a KMR átlagos vastagságát. A D-NAME csoport a felső retinafélben a a kontroll állatok KMR vastagságának csak a 35%-át őrizte meg, míg ez az érték az L-NAME csoportban 64% volt. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az L-NAME morfológiai védelmet nyújt akut fénystressz esetén.

4.1.2 A transzgén patkányok vizsgálata

A P23H és S334ter transzgén patkányok ERG regisztrátumainak amplitúdói szignifikánsan alacsonyabbak, mint a vad típusú kontroll állatoké, a két transzgén vonal közül az S334ter-nél volt súlyosabb a funkcióvesztés. Az azonos típusú transzgén patkányok görbéit összehasonlítva azonban megállapíthatjuk, hogy az L-NAME adagolása nem biztosított szignifikáns funkcionális védelmet a D-NAME-hez viszonyítva. A legnagyobb fotoreceptorsejt veszteség szintén a 2 transzgén vonalban volt, azok közül is az S334ter-ben a legsúlyosabb. Egyik genotípusban sem volt azonban különbség az L-NAME és a D-NAME-mel kezelt állatok retinája között. Az L-NAME tehát védelmet nyújt a fotostresszel szemben, de nem protektív az általunk vizsgált kétféle rodopszinmutáció okozta örökletes retina degenerációban.

4.2 A progeszteron hatásának vizsgálata fénystresszben

A fénystresszelt-progeszteronnal kezelt és a fénystresszelt-progeszteronnal nem kezelt állatok követéses ERG eredményeit összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a különbség statisztikailag nem szignifikáns (a hullámok: $p=0.12$, b hullámok: $p=0.08$). A fénystresszelt állatok retinája súlyos károsodást mutatott, a pusztulás mindkét fényexponált csoportban a felső retinális régióban a legkifejezettebb. Kiszámoltuk az átlagos KMR vastagságot és PBSZ+PKSZ hosszúságot. A különbség a progeszteronnal kezelt és exponált, valamint a vivőanyaggal kezelt és exponált patkányok adatai között nem volt szignifikáns (KMR: $p=0.61$, PBSZ+PKSZ: $p=0.51$). A fenti eredmények az elektrofiziológiai teszt adatait támasztják alá és együtt azt bizonyítják, hogy a progeszteron nem protektív erős fény okozta retina degenerációval szemben.

4.3 A környezeti fényviszonyok befolyásának elemzése

A 72 órán tartó, 3000 lux intenzitású fényel elvégzett expozíció kifejezett fotoreceptor károsodást okozott mindkét kísérleti csoportban, de a félhomályban tartott egereknél volt súlyosabb a pusztulás. A világosban tartott egerek retinájában csak a KMR jelzett elvékonyodását és a PKSZ mérsékelt megrövidülését láttuk. Az ugyancsak világosban nevelt, de fénystressznek ki nem tett állatok retinájával összehasonlítva, az átlagos KMR vastagság 17%-kal ($p<0.0001$), az átlagos PBSZ+PKSZ hossz 28%-kal ($p<0.0001$) csökkent. A félhomályban nevelt egerek retináján azonban drámai fotoreceptor pusztulás látható. A gyenge fényben nevelt kontroll egerekkel összehasonlítva az átlagos KMR vastagság 59%-kal ($p<0.0001$), az átlagos PBSZ+PKSZ hossz pedig 71 %-kal csökkent ($p<0.0001$). A két fényexponált csoportot összevetve azt találtuk, hogy a félhomályban tartott állatoknál az átlagos KMR vastagság 50 %-kal ($p<0.0001$), az átlagos PBSZ+PKSZ pedig 56 %-kal ($p<0.0001$) volt kevesebb mint a világosban nevelt, fényexponált állatoknál.

Hogy jobban megismerjük az egyes kísérleti csoportokban végbemenő apoptózis mértékét, TUNEL assay-t végeztünk. Sem a halvány fényben, sem a világosban tartott kontroll egerek retinájában nem találtunk TUNEL-pozitív sejteket. Ezzel szemben mindkét fotostresszelt csoportnál ábrázolódtak TUNEL-pozitív sejtek, a félhomályban nevelkedetteknél nagyobb számban. A neutrális gél elektroforézissel meghatározott DNS

fragmentációs minta megerősítette a TUNEL assay eredményét. A ciklikus, gyenge fényviszonyok között tartott, fényexponált egereknél nagyobb mértékű volt a DNS laddering, mint a ciklikus, erős megvilágításban nevelkedett, fényexponált egyedeknél.

Meghatároztuk a négy kísérleti csoport külső szegmensének dokozohexánsav (DHS) tartalmát. A legmagasabb DHS szintet a két kontrollcsoportban mértük és nem volt szignifikáns különbség a félhomályban nevelt (36 mol%) és a világosban tartott (35 mol%) egerek adatai között. A 72 órán át tartó folyamatos fényexpozíciót követően a DHS tartalom mindkét exponált csoportban szignifikánsan csökkent a kontroll egyedekkel összehasonlítva. A nagyobb mértékű csökkenés a félhomályban tartott állatoknál jelent meg (16 mol% 23 mol%-kal szemben).

5. MEGBESZÉLÉS

5.1 Az L-NAME adagolásával végzett vizsgálatok

Bár a fotoreceptorok pusztulásához vezető molekuláris lépések pontosan még nem tisztázottak, bizonyos hipotézisek szerint az erős fény elnyelődése a fotoreceptor sejtek károsodását okozó szabad gyökök felszabadulásához vezet. A nNO ilyen szabadgyök, mely normálisan a fototranszdukciós kaszkádon keresztül fejt ki hatását a guanilát cikláz aktiválása révén. A mi kísérletünkben az L-NAME az inaktív izomer D-NAME-mel szemben szignifikáns morfológiai védelmet nyújtott a pálcikáknak fénystresszben, a funkcionális protekció azonban nem volt statisztikailag szignifikáns. Az ebben a tárgyban eddig publikált munkák egyikében sem alkalmaztak ERG-t a funkcionális protekció vizsgálatára. A mi eredményünk magyarázata az lehet, hogy a védőhatás csak a felső hemiszfériumban volt szignifikáns és ez a terület talán kicsi ahhoz, hogy érvényesüljön a "tömegválaszt" reprezentáló ERG-ben. Emellett, a mi adatainkhoz hasonlóan nem találtak megtartott ERG választ jelentős morfológiai védelem mellett olyan vizsgálatokban, ahol különböző retina degenerációk állatmodelljeinek többféle növekedési faktort adtak. A jelenség tisztázása további kutatást igényel.

Annak vizsgálatára, hogy az L-NAME pozitív hatása kiterjed-e rodopszin mutáció miatt létrejött örökletes retina degenerációkra, két transzgén vonalat (P23H és S334ter) használtunk. Mi sem szerkezeti, sem működésbeli különbséget nem találtunk az L-NAME-mel illetve D-NAME-mel kezelt csoportok között, egyik transzgén genotípusban sem. Az L-NAME-hez hasonlóan a FBN is hatásos volt fénystressz ellen, de ineffektív örökletes retina degenerációban. Ez a differenciált gyógyszerhatás hasznos információkat nyújthat a specifikus mutációkban lezajló sejtpusztulásról. Például, mivel sem a szabadgyökkötő FBN, sem az L-NAME nem nyújt védelmet a degeneráció ellen P23H és S334ter patkányokban, valószínűtlen, hogy a szabadgyök mehanizmus szerepet játszana az elfajulásban. A fénystresszben és a mutációs kísérletekben a különböző drogokra adott eltérő válaszok a két folyamat között fennálló alapvető különbségekre mutatnak rá. Bár az apoptózis a "végső közös út", az odáig elvezető lépésekben jelentős különbségek vannak. A szabad gyökök és a lipid peroxidáció szerepet játszanak a fénykárosodásban, de nem tényezők az általunk vizsgált két retina degenerációban.

5.2 A progeszteron hatásának vizsgálata fénystresszben

A mi eredményeink azt mutatták, hogy a fényexpozíció az ERG válaszok szignifikáns csökkenését okozta mindkét fotostresszelt csoportban, de nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a progeszteronnal és a vivőanyaggal kezelt állatok között. A morfológiai adatok is ezt támasztották alá. Eredményeink tehát nem igazolják azt a feltételezést, hogy hím albínó patkányokban a progeszteron adása kivédi a fénystressz okozta retina degenerációt. Valószínű, hogy a fény okozta retinális stressz egyéb stresszektől eltérően (pl. agysérülés, agyvérzés, epilepsziás görcs) nem védhető ki progeszteronnal. A mi kísérleteinkben a progeszteron önmagában hatástalannak bizonyult, lehetséges azonban, hogy a két női steroid hormon, az ösztrogén és a progeszteron közötti kölcsönhatás felelős a neuro- és kardioprotektív hatásért.

5.3 A környezeti fényviszonyok befolyásának elemzése

Munkánk során strukturális és biokémiai bizonyítékokat találtunk arra, hogy albínó egerek erős, ciklikus fényviszonyok között történő nevelésével kivédhető a fotoreceptorok fotostressz okozta apoptózisa. Az albínó egerek is képesek a környezeti fényviszonyokhoz adaptálódni, ugyanúgy, ahogy azt már több szerző korábban leírta albínó patkányokkal kapcsolatban. Mivel a 7-től 35 napos korukig erős ciklikus fényben nevelt egereknél apoptózisra utaló jelet nem találtunk és a két csoport egyedei azonos genotípussal rendelkeztek, minden, a félhomályban és a világosban nevelt egerek között kimutatott eltérés a különböző "fénytörténetük" következtében kialakult adaptációnak tudható be. Az egyik ilyen adaptációs mehanizmus a fotosztázis jelensége. Ennek lényege, hogy a retina a magas, illetve az alacsony fotonbeáramlásra a pálcikák külső szegmensének rodopszin tartalmának megváltoztatásával válaszol, ezzel biztosítva a naponta befogadott fotonok mennyiségének állandóságát. Bár mi nem mértük az egerek retinájának rodopszin tartalmát, de minden valószínűség szerint náluk is lejátszódott ez a folyamat. Egy másik alkalmazkodási mód a pálcikák külső szegmentjében a DHS koncentrációjának mérséklése, ezzel mintegy csökkentve a lipid peroxidáció szubsztrátjának mennyiségét. Ezek a változások a retina erős fényhez történő anatómiai és funkcionális adaptációját szolgálják és céljuk a fotostressz okozta apoptózis iránti fogékonyság csökkentése. A folyamat gyorsan követi a környezeti fényviszonyok

változását és nagy rugalmasságot mutat. A mi kísérletünkben a fénystresszt követően a félhomályban nevelkedett állatokban volt nagyobb a DHS veszteség, ezzel azt sugallva, hogy náluk kevésbé volt hatékony a lipid peroxidáció megelőzését szolgáló antioxidáns védelem.

Egerek és patkányok retinájában számos olyan endogén választ írtak le, amelyek tartós erős fényben tartás vagy akut fénystressz hatására jöttek létre. Ezek a reakciók nagyjából három kategóriába sorolhatók. (i) Strukturális és molekuláris változások, melyek csökkentik a fotonelnyelés és a fototranszdukció hatékonyságát. (ii) Olyan endogén folyamatok elősegítése, amelyek védelmet nyújtanak az apoptózissal szemben. (iii) Stressz-okozta, apoptózisra érzékeny endogén mehanizmusok visszaszorítása. Ezen folyamatok molekuláris etiológiájának azonosítása és annak tanulmányozása, hogy hogyan lehet azokat befolyásolni, alapul szolgálhat a különböző örökletes retina degenerációk kezeléséhez. Munkánkban azt igazoltuk, hogy az ilyen jellegű kutatások végzésére az egerek is alkalmasak, sőt géntérképük alaposabb ismerete miatt alkalmazásuk előnyösebb a patkányokénál.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

- 6.1** A NOSZ gátló L-NAME jelentős, de statisztikailag nem szignifikáns funkcionális védelmet nyújt vad típusú albínó patkányokban fotostressz okozta fotoreceptor pusztulás ellen.
- 6.2** Az L-NAME nem protektív rodopszin mutáció okozta retina degenerációban P23H és S334ter transzgén albínó patkányokban.
- 6.3** Progeszteron adagolása nem nyújt védelmet az erős fény hatására kialakult fotoreceptor apoptózissal szemben hím albínó patkányokban.
- 6.4** Az erős, ciklikus megvilágításban nevelt albínó egerek védelmet élveznek fénystressz indukálta retinaelfajulással szemben.

7. AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSA

Az retinitis pigmentosa prognózisa rossz, 50 éves korukra a betegek kb. felének vízusa 0.1 alá csökken, látóterük centrális 2-3°-ig beszűkül. Hatásos terápia napjainkig nem áll rendelkezésre. Állatkísérletekben az aszkorbinsav, a DMTU, a PBN, a Ginkgo biloba, az E vitamin és a metilprednisolon védelmet nyújtottak az erős fény kiváltotta retina degeneráció ellen. Humán gyógyászatban az aszkorbinsavat, a Ginkgo bilobát és az E vitamint alkalmazzák antioxidáns hatásuk miatt, de a retina degenerációk terápiájában ezek a szerek sem hoztak áttörést. Olyan gyógyszerre lenne szükség, mely az apoptózis folyamatát blokkolná, vagy legalábbis lassítaná és így a betegek tovább élhetnének használható vízussal.

A kísérletünkben használt koncentrációban az L-NAME nem bizonyult olyan hatásosnak, mint pl. a FBN, az aszkorbinsav vagy a DMTU. Ez ugyan határt szabhat a későbbiekben történő alkalmazásának, de egy lépéssel közelebb kerültünk az apoptózis molekuláris mehanizmusának megértéséhez, mivel a NO bizonyosan szerepet játszik benne.

A progeszteron adása kecsgetett a leggyorsabb eredménnyel, mert ugyan más indikációkkal, de az orvoslásban már régóta alkalmazott szer. Sajnos azonban, a cerebrovasculáris és cardiovascularis betegségektől eltérően, a retina degenerációban nem bizonyult protektívnek.

Annak bebizonyításával, hogy az erős, ciklikus megvilágításban történő neveléssel az albínó egerekben is fénystressz elleni neuroprotekciónak alakítható ki, új utak nyílhatnak meg a retina degenerációk kutatásában. Az egerek génállományának alaposabb ismerete, könnyebb manipulálhatósága előnyösebbé teszi alkalmazásukat a patkányokkal szemben.

8. KÖZLEMÉNYEK, PREZENTÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezéshez felhasznált közlemények

1. **Káldi, I.**, Dittmar, M., Pierce, P., Anderson, R. E.: L-NAME protects against acute light damage in albino rats, but not against retinal degeneration in P23H and S334ter transgenic rats. *Experimental Eye Research* 2003, 76 (4): 453-461.

IF: 2.180

2. **Káldi, I.**, Martin, R.E., Huang, H., Brush, R.S., Morrison, K.A., Anderson, R.E.: Bright cyclic rearing protects albino mouse retina against acute light-induced apoptosis. *Molecular Vision* 2003, 9: 337-344.

IF: 2.722

3. **Káldi, I.**, Berta, A.: Progesterone administration fails to protect albino male rats against photostress-induced retinal degeneration. *European Journal of Ophthalmology* 2004, 14(4): 306-314.

IF: 0.483

Egyéb közlemények

1. **Káldi I.**, Török M.: Káprázás okozta látáscsökkenés progrediens és incipiens cataractás betegeken. *Szemészet* 1995. 132: 197-199.

IF: -

2. Nagy, E.V., Tóth, J., **Káldi, I.**, Damjanovich, J., Mezősi, E., Lenkey, A., Tóth, L., Szabó, J., Karányi, Z., Leövey, A.: Graves' ophthalmopathy: eye muscle involvement in patients with diplopia. *European Journal of Endocrinology* 2000. 142 (6): 591-597.

IF: 2.133

Kumulatív impakt faktor 7.518

Nemzetközi idézettség: 16

Prezentációk

- 1. Káldi, I.,** Török, M. Glare induced visual decrease in patients with incipient and progredient cataract (*poszter*) *Xth Congress European Society of Ophthalmology Milano, Italy June 25-29, 1995.*

- 2. Halász, B., Káldi, I.** Ocul-Info szemészeti betegnyilvántartó rendszer (*előadás*) *Magyar Szemorvostársaság Nagygyűlése Pécs, 1997.*

- 3. Káldi, I.,** Török, M. Glaukomás látótérkiesés progressziójának megítélése Humphrey Field Analyser-730 automata periméterrel (*előadás*) *Magyar Szemorvostársaság Nagygyűlése Kaposvár, 1998.*

- 4. Ranchon, I., Káldi, I.,** Anderson, R.E. P23H and S334ter rhodopsin transgenic rats are differently susceptible to cyclic or continuous light. Effect of PBN on the degeneration induced by the mutation or light (*poszter*) *Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Miami, Fl., USA, 2002.*

- 5. Káldi, I.** Anderson, R.E. Az L-NAME albinó patkányokban védelmet nyújt acut fénykárosodással szemben, de nem protectív a P23H és S334ter transzgén patkányokban kialakuló retina degeneratio ellen (*előadás*) *A Magyar Szabadgyök Kutató Társaság Ülése, Nagykőrös, 2003.*