

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Új lehetőségek a könny képkalkotó diagnosztikájában és proteomikai  
vizsgálatában**

**Dr. Vén-Tóth Noémi**

**Témavezető:**

**Prof. Dr. Csutak Adrienne**



**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2021**

# ÚJ LEHETŐSÉGEK A KÖNNY KÉPALKOTÓ DIAGNOSZTIKÁJÁBAN ÉS PROTEOMIKAI VIZSGÁLATÁBAN

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a klinikai orvostudományok tudományágban

**Írta: Dr. Vén-Tóth Noémi, okleveles orvosdoktor**

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskolája  
(Klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Csutak Adrienne

Az értekezés bírálói:

Dr. Takács Lili, PhD  
Dr. Vizvári Eszter, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA doktora  
tagok: Dr. Takács Lili, PhD  
Dr. Vizvári Eszter, PhD  
Dr. Tarr Tünde, PhD  
Dr. Resch Miklós, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,  
2022. május 16. 13:00 (online)

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy kérem, jelezze a toth.noemi@pte.hu e-mail címre küldött üzenettel, a vitát megelőző munkanap (2022. május 13.) 12 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

## 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A stabil preokuláris könnyfilm az egészséges szem egyik jellemzője, ez képezi a látórendszerbe bejutó fény elsődleges törőfelületét, valamint védi és hidrálja a szaruhártyát. A könnyfilmnek három rétegét – két fázisát - különböztetjük meg: a szemfelszín borító mucinréteg csökkenti a hámsejtek feltételezett hidrofób jellegét, a vizes réteg lubrikálja a szemfelszín, tápanyaggal látja el és antibakteriális hatású, a lipidréteg megakadályozza a könnyfilm evaporációját.

A könnyfilm szerkezetének feltárására az irodalomban különféle módszerekkel találkozhatunk, a hagyományos, fluoreszceinnel festett könnyfilm felszakadási idő (TBUT) és a Schirmer teszt alkalmazásától, a fluoreszceinnel festett szemfelszín rotátoros Scheimpflug képalkotó vizsgálatán át (Pentacam, Oculus, Németország) a szimultán fluoreszceinnel festett szemfelszín videós felvételéig, melyet a könnyfilm lipid rétegének képalkotó vizsgálatával kombinálhatnak.

Az újdonságnak számító LacryDiag® (Quantel Medical, Franciaország) nevű eszköz számos nem-kontakt vizsgálattal diagnosztizálhatja a száraz szem szindrómát (DED), például az alsó könnymeniszkusz magasság mérése (LTMH), a felső (MeibS) és az alsó (MeibI) szemhéj meibográfia, az interferometria (INT) és a nem invazív könnyfilm felszakadási idő (NIBUT) mérése.

Az oxigén, a metabolitok és az elektrolitok mellett a könnyfilm antimikrobiális peptideket, fehérjéket és oldható immunglobulinokat tartalmaz, amelyek védik a szemfelszín a fertőzésektől. A könnyet, mint testfolyadékot, széles körben vizsgálják a szembetegségek

diagnosztizálására. A könny teljes fehérjekoncentrációja körülbelül 10 mg/ml, ami hozzávetőlegesen hétszer kisebb, mint a vérsérumban lévő fehérjéké. A könnyben található fehérjék, kis szerves molekulák, metabolitok, elektrolitok és lipidek potenciális biomarkerek lehetnek szemészeti és szisztémás betegségekben is.

A modern proteomikai technikák érzékenysége több mint 1500 fehérje azonosítását tette lehetővé. A kvalitatív proteomikát - mely a fehérje mintában való jelenlétét azonosította, - a proteomikai platformok poszttranszlációs módosítások mérésére szolgáló mérőműszerek kifejlesztésével felváltotta a kvantitatív proteomika. Egyazon mintában több fehérje vizsgálatához azonban multiplex módszerekre van szükség. A kombinált módszereket alkalmazó megközelítések közé tartozik az antitest-alapú kimutatás és a kvantitatív polimeráz láncreakció (qPCR) kombinációja. A proximity extension assay (PEA) két, külön-külön nagy teljesítményű elemzési technika kombinálásával lehetővé teszi több fehérje relatív mennyiségi meghatározását nagyon kis mennyiségű (1µl) minta esetén, hatékony eszközt biztosítva a kis térfogatban rendelkezésre álló testfolyadékok elemzéséhez.

## 2. Célkitűzések

- Kutatásunk célja egy modern könnyfilm képalkotó eszköz megbízhatóságának és klinikai alkalmazhatóságának vizsgálata volt az inter- és intraobszerver különbségek összehasonlításával.

- Vizsgáltuk a hagyományos referencia módszer és a modern diagnosztikai eszköz különbségét a TBUT és a LacryDiag<sup>®</sup> készüléssel mért NIBUT összehasonlításával.
- A PEA módszer alkalmazásával kvalitatív és kvantitatív könnyanalízist végeztünk nem invazívan gyűjtött könnymintákban.
- A trabekulektómiát követő sebgyógyulási folyamatok pontosabb megértése céljából műtét utáni molekuláris eltérések analízisét végeztük, a lebeny komplikációkra fókuszálva.

### 3. Betegek és módszerek

#### 3.1. Betegcsoportok

##### 3.1.1. Betegcsoportok a képalkotó vizsgálatban

Tanulmányunkat a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Szemészeti Klinikáján végeztük. A vizsgálatba bevont 50 egészséges önkéntes (20 férfi és 30 nő) a kutatás ideje alatt, illetve azt megelőzően nem szenvedett semmilyen általános vagy szemészeti betegségben, nem viseltek kontaktlencsét, valamint nem estek át intraokuláris vagy bármilyen típusú refraktív műtéten. A Helsinkii Deklaráció elveinek megfelelően a bevonás előtt minden pácienszt részletesen tájékoztattunk, majd írásos beleegyezésüket kértük a kutatásba. A kutatás a helyi etikai bizottság jóváhagyásával valósult meg.

##### 3.1.2. Betegcsoportok a proteomikai vizsgálatban

A könnymintákat a Debreceni Egyetem Szemklinikáján trabekulektómia műtéten átesett glaukómás betegektől gyűjtöttük. A mintavétel a Helsinki Deklarációnak megfelelően történt, a helyi etikai bizottság jóváhagyásával. A beválogatott 8 beteg (2 férfi és 6 nő) előzetes felvilágosítást követően írásos beleegyezését adta a könnyminta vételbe a trabekulektómia előtt (0. nap), a műtétet követő első napon, negyedik napon, illetve a posztoperatív harmadik hónapban. Egy esetben 3 hónapos mintavétel helyett 10. hónapos mintavétel történt. A pácienseket retrospektíven két csoportba soroltuk: „szövődményekkel járó” és „szövődménymentes” csoportokba attól függően, volt-e szükség szemnyomás csökkentő szemcsepp alkalmazására a posztoperatív első évben. Három beteg esetében nem értük el a cél IOP értéket a sebészeti beavatkozással, ezért gyógyszeres kiegészítésre volt szükség. A trabekulektómiát követően vizsgálatba bevont betegeknél korai posztoperatív szövődmény nem jelentkezett. Korai posztoperatív szövődménynek a következő eseményeket tartottuk: trabekuláris párna szivárgás, alacsony szemnyomás (hypotonia), hypheama, chorioidealis effúzió, vérzés vagy gyulladás (blebitis, endophthalmitis). Kizárási kritérium volt az autoimmun kórképek, szisztémás gyulladásos állapotok, valamint a glaukómán kívüli egyéb szemfelszíni betegség együttes fennállása.

### 3.2. Klinikai vizsgálatok

#### 3.2.1. Képkalkotó vizsgálat

Átfogó szemészeti vizsgálatot végeztünk: látásélesség mérést követően elülső szegmentum réslámpás vizsgálatot, LacryDiag<sup>®</sup>-ot (Quantel Medical, Franciaország) és TBUT mérést. A TBUT-t legalább 5 perccel a LacryDiag<sup>®</sup> vizsgálat után hajtottuk végre. Az eszköz által mért LTMH, MeibS, MeibI, INT és NIBUT paraméterek megfelelnek a TFOS DEWS 2 riport kritériumainak; ezért ezeket a nem-kontakt vizsgálatokat értékeltük tanulmányunkban.

A LacryDiag® vizsgálatot és a TBUT mérést ugyanaz a tapasztalt vizsgáló orvos végezte minden beteg esetében. Két független, tapasztalt vizsgáló választotta ki és elemezte az LTMH-t, a MeibS-t, a MeibI-t és az INT-t. A második vizsgáló egy hónappal később újra elemezte az adatokat. A vizsgálat körülbelül 10 percet vett igénybe, és egyik páciens sem panaszkodott fájdalomról, kényelmetlenségről vagy látászavarról.

A LacryDiag® készülékkel az LTMH mérése félautomata módon történik. A vizsgálat során a vizsgáló kaliperrel méri az alsó meniszkuszban összegyűlt könny magasságát. Elemzésünkhöz öt mérés átlagát használtuk.

A Meib során a LacryDiag® készülék a Meibom-mirigyek infravörös leképezését és képelemzését alkalmazza, automatikus határfelismeréssel és szükség esetén manuális korrekciókkal. A technika a kifordított szemhéj fehér fény-átvilágításán alapul. A félautomata módszer során a műszer meghatározza a mirigy vesztesség százalékos értékét, miután a vizsgáló manuálisan jelöli ki a vizsgálandó területet.

Az INT a lipidréteg kvalitatív és kvantitatív elemzését jelenti. Ezzel a módszerrel a vizes fázis felszínén vékony rétegben kiterjedő olajos fázis mutatható ki. Az olajos fázis kinetikája és reflexiós mintázata alapján értékelhető a lipidréteg vastagsága. A könnyfilm ezen rétegét többnyire a Meibom-mirigyek termelik. A műszer lehetővé teszi a páciens szemfelszínéről készített videófelvételének referencia videókkal való összehasonlítását (7 előre elkészített videófelvétel).

A NIBUT a könnyfilm stabilitását az evaporáció mértéke alapján határozza meg. Alapja a szemfelszínre vetített minta tükröződésének megfigyelése. A NIBUT szoftver automatikusan észleli a pislogást, rögzíti a két pislogás közti intervallumot és kiszámolja a NIBUT értékét. A vizsgáló teendője a felvétel megkezdésére és leállítására korlátozódik és osztályozási

feladattal sem jár. A kézikönyv szerint, ha a pislogások közti intervallum eléri a 12 másodpercet, a felvételt le kell állítani. A statisztikai elemzéshez ordinális skálát alkalmaztunk a statisztikai torzítás csökkentése céljából. A két módszer összehasonlítása során a NIBUT és a TBUT ordinális skála cut-off értékének szakirodalom alapján 10 másodpercet határoztunk meg, azonban a NIBUT-nél 12, a TBUT-nél pedig 8 másodperces cut-off érték jobb diagnosztikai képességet mutatott, ezért mindkét cut-off értékkel elvégeztük a statisztikai számítást.

### 3.2.2. Proteomikai vizsgálat

#### 3.2.2.1. Könnymintavétel

A nem invazív könnygyűjtés steril üvegapilláris csövekkel (VWR Ltd. Radnor, PA, USA) történt 2 percen keresztül az oldalsó alsó meniszkuszból, helyi érzéstelenítés és stimuláció alkalmazása nélkül. Centrifugálást követően (4°C-on 2,4xg-vel 10 perc) a felülúszókat öt µl-es aliquotákra osztottuk, mélyhűtöttük és -70°C-on tároltuk az elemzésig. A könnyminta vételt követően szemészeti vizsgálat történt (látásélesség vizsgálat, szemnyomás mérés, elülső és hátulsó szegmentum réslámpás vizsgálata).

#### 3.2.2.2. Fehérjék relatív mennyiségi meghatározása Proximity Extension Assay segítségével

A PEA vizsgálatokat az Olink Proteomics (Uppsala, Svédország) végezte. A gyulladáscsökkentő és kardiovaszkuláris betegségek II (CVD II) panelek felhasználásával összesen 184 fehérje relatív kvantitálása történt meg. Előző kutatásaink alapján választottunk ki a vizsgálni kívánt fehérjéket. Ezek a fehérjék a gyulladáscsökkentő panelben és a CVD II panelben voltak megtalálhatóak, ezért ezen két panelre esett a választás. Az egyes fehérjékre jellemző értékeket NPX

egységekben, az Olink Proteomics által bevezetett relatív fehérje mennyiségi egységben kaptuk meg.

### 3.2.2.3. Funkcionális elemzés

A minták több mint 30%-ában kimutatott fehérjék hierarchikus klaszterezését a Gene Cluster 3.0 (<http://cluster2.software.informer.com/>) programmal végeztük, valamint hőtérkép elemzést végeztünk a Java TreeView 1.1.6r4 verziójával. A klaszterezés előtt nem végeztünk szűrést vagy kiigazítást az adatokon, a távolság/hasonlósági mértékek a Pearson-féle korreláción alapultak, a klaszterezés pedig teljes kapcsolat elemzéssel történt. A kiválasztott fehérjék hálózatát a String 10.5 programmal rajzoltuk meg alapértelmezett beállítások és közepes szigorúság mellett és a véletlenszerű eloszláshoz képest nagyobb arányban reprezentált, azaz feldúsulást mutató gén ontológiai (GO) funkciókat kiemeltük. A String adatbázis egy könnyen használható eszközt biztosít a fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatok elemzéséhez, és információt ad a fehérjék szerkezetéről és funkciójáról. A statisztikailag szignifikáns változásokkal rendelkező fehérjék esetében Wikipathways kereső funkció segítségével útvonal elemzést végeztünk. (<https://www.wikipathways.org/index.php/WikiPathways>). Az útvonalak értékelése manuálisan történt.

## 3.3. Alkalmazott statisztikai módszerek

### 3.3.1. Képkalkuláció vizsgálata

A statisztikai elemzést Intercooled Stata for Windows (13.0 verzió) segítségével végeztük. Minden esetben a jobb szem vizsgálati adatait használtuk fel. Leíró statisztika esetén az átlagot, a szórást (standard deviáció, SD) és az átlag 95% megbízhatósági tartományát (95%

MT) adtuk meg. Az LTMH, a MeibS és a Meibl esetében osztályon belüli korrelációs együtthatók (intraclass correlation coefficient - ICC) kiszámítása történt a vizsgálók közötti és egy vizsgáló két elemzése közötti megbízhatóság megbecslésére. A 0,4 alatti ICC rossz, az ICC 0,4 és 0,59 közötti értéke kielégítő, a 0,6 és 0,74 közötti eredmény jó, valamint 0,75 és 1,0 közötti érték kiváló megbízhatóságot jelez. Az INT, valamint a NIBUT és a TBUT közötti egyetértési mutató értékeléséhez ordinális kategóriájuk miatt súlyozott Cohen féle kappa-statisztikáját alkalmaztuk. A Cohen féle kappa együttható 0,2 alatti értéke alacsony, 0,21–0,40 kielégítő, 0,41–0,60 mérsékelt, 0,61–0,80 lényeges és 0,81–1,0 szinte tökéletes egyetértési mutatót jelent. Bland-Altman ábrázolást végeztünk a kiértékelések közötti különbségek vizualizálására és meghatároztuk az egyezés határértékét (limits of agreement, LoA; átlagos különbség  $\pm$  a különbség szórásának 1,96-szorosa). Ezen diagramokon a középső vonal jelzi az eszközök közötti átlagos különbséget, a felső és az alsó vonal pedig a 95% -os LoA értékeket. A  $p < 0,05$  értéket határoztuk meg statisztikailag szignifikánsnak.

### 3.3.2. Proteomikai vizsgálat

A két csoportra jellemző átlagos NPX-értékek összehasonlítására nem-parametrikus Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk. A statisztikai elemzést az SPSS 25.0 (IBM Inc., USA) programmal végeztük. A műtét sikeressége és/vagy az idő relatív fehérjemennyiségekre gyakorolt hatásának vizsgálatához lineáris kevert modellt és varianciaanalízist (analysis of variance; ANOVA) alkalmaztunk az R program lmerTest funkciójának használatával, melyet az Olink (Svédország) cég végzett el. Az elemzésekbe nyolc különböző betegől származó könnymintát vontunk be, melyeket öt különböző időpontban vettünk. A 30%-nál kisebb detektálhatóságú fehérjéket eltávolítottuk az elemzésből, így 138 fehérje analízise történt a 184-ből.

Az időpontot és a szövődményeket fix hatásként vettük figyelembe, a vizsgálati alany azonosítóját véletlen hatásként vettük figyelembe. A vizsgálatba bevont betegek alacsony száma miatt a nemek hatását nem vizsgáltuk. A rögzített hatásra vonatkozó p-értékeket a szabadságfokok Satterthwaite-féle közelítésével becsültük és Benjamini-Hochberg módszerrel korrigáltuk. Minden szignifikáns vizsgálat esetében post hoc tesztet végeztünk a populációs átlag és a csoportok közötti páros különbségek becslésére. A post hoc p-értékeket a Tukey-módszerrel számoltuk ki.

## 4. Eredmények

### 4.1. Képkalkotó vizsgálat

A vizsgált ötven egészséges önkéntes TBUT mérése során az önkéntesek 15,6%-a 8 másodperc alatt és 28,12%-uk 10 másodperc alatt volt. A NIBUT mérése során a vizsgált személyek 28,12%-a 10 másodperc alatt, és 75%-uk 12 másodperc alatt volt.

Az LTMH esetében mind az inter- mind az intraobszerver variabilitás kiváló volt (interobszerver ICC = 0,805; intraobszerver ICC = 0,868). Két vizsgáló között a Meibl ICC-érték gyenge volt (Meibl ICC = 0,464), azonban a MeibS ICC-érték jó volt (MeibS ICC = 0,666). A Meibl és a MeibS intraobszerver variabilitása kiváló volt (Meibl ICC = 0,760; MeibS ICC = 0,771) Az LTMH, a Meibl és a MeibS Bland-Altman-féle diagramjai a LoA-értékek nagyfokú variabilitását mutatják a csoportok között.

A két vizsgáló között, valamint az egy vizsgáló két kiértékelése között az INT kiértékelésének egyetértési mutatója korrekt és mérsékelt volt (INT interobszerver érték = 0,301;  $p = 0,0002$ ; INT intraobszerver értéke = 0,566;  $p < 0,001$ ), azonban az intraobszerver

hasonlítás során az egyetértés mutatója magasabb volt. Az INT-hez tartozó Bland-Altman-diagramok a LoA nagyfokú variabilitását mutatják a csoportok között minden paraméter esetében.

A NIBUT és a TBUT módszerek összehasonlítása során a különböző cut-off értékek esetén csekély volt az egyetértési mutató (NIBUT cut-off 12 mp. TBUT 8 mp: kappa koefficiens = 0,075;  $p = 0,099$ ; NIBUT és TBUT cut-off 10 mp: kappa koefficiens = 0,054;  $p = 0,376$ ).

#### 4.2. Proteomikai vizsgálat

##### Könnyminta elemzés Proximity Extension Assay módszerrel

A könnymintákat az Olink Proteomics (Uppsala, Svédország) PEA-val elemezte a CVD II és a gyulladáshoz kapcsolódó panelek alkalmazásával. Mindegyik panel 92 fehérjét és négy belső kontrollt tartalmazott, összesen 184 fehérjéről szolgáltatva információt. Az agyból származó neurotrofikus faktor vizsgálatával kapcsolatban technikai probléma adódott, ezért ezen fehérje elemzése nem volt kivitelezhető. Minden egyes mintához belső kontrollokat adtunk a vizsgálat és az egyes minták minőségének ellenőrzésére. A minőségellenőrzést (QC) két lépésben végeztük: i) minden mintalemezt a belső kontrollok SD értéke alapján értékeltünk és csak a minőségellenőrzésen átesett ( $SD < 0,2$  NPX) mintalemezek adatait vettük számításba, ii) az egyes minták minőségét a kontrollok medián értékétől való eltéréssel értékeltük. Azok a minták, amelyek 0,3 NPX-nél kisebb mértékben térnek el a mediántól, átmertek a minőségellenőrzésen. Ez a CVD II esetében 60-ból 55, a gyulladáshoz kapcsolódó panelek esetén 60-ból 57 fehérjét jelentett. A legtöbb fehérjét  $< 5\%$ -os variációs koefficienssel (CV) lehetett mérni, az

intraassay CV jellemzően 4% volt. Fentiek alapján a PEA módszer megbízhatósága megfelelőnek és a könnyűminták vizsgálatára is alkalmazhatónak bizonyult.

#### A fehérjeszint változások vizsgálata trabekulektómia után

A két betegcsoport (szövődményes és szövődménymentes) eredményei között legalább 20% eltérést mutató fehérjéket a String hálózatelemző programba vezettük be. A szövődményes csoportba tartozó betegek mintáiban kisebb valószínűséggel megjelenő fehérjék hálózata 17 fehérjét tartalmazott. A von-Willebrand faktor hasító proteáz, az alfa-1-mikroglobulin/bikunin prekursor, a kemokin (C-C motívum) ligand 3, a CD40 ligand, a CD84 molekula, szénsav anhidráz 5A, a 2,4-dienoil-CoA reduktáz 1, az IgG Fc fragmens alacsony affinitású receptora, a fibroblaszt növekedési faktor 23, a gyomor intrinsic faktor, a leptin, a kollagénszerkezetű makrofág receptor, a pitvari natriuretikus faktor, a renin, a trombopoetin, a tumor nekrosis faktor szupercsalád 14-es tagja és az UDP -glükóz glikoprotein glükozil-transzferáz 1 kisebb valószínűséggel található meg a szövődményekkel küzdő betegektől származó mintákban. 6 fehérje azonban nagyobb valószínűséggel volt jelen a szövődményes csoportban: az interleukin 17C, az interleukin 10 receptor alfa alegység, az interleukin 20 receptor alfa alegység, a 19-es fibroblaszt növekedési faktor, az artemin és a tumor nekrosis faktor szupercsalád 11-es tagja.

A pontosabb elemzés érdekében a minőségi vizsgálatot mennyiségi elemzés követte. 184 fehérjéből 46 fehérje a minták kevesebb mint 30%-ban volt kimutatható, így ezeket a fehérjéket kizártuk a további statisztikai elemzésekből. A fehérjék relatív mennyiségének változásait hőtésképen tettük láthatóvá. Az adatok hierarchikus klaszterezése azt mutatta, hogy e fehérje mintázatok alapján a szövődményekkel járó csoport nem különíthető el egyértelműen a szövődménymentes csoporttól. Ugyanakkor 14 fehérje esetében nagyobb

mennyiséget lehetett megfigyelni a szövődményekkel járó csoportba tartozó mintákban: kaszpáz 8, S100A12 fehérje, TNF szupercsalád 14-es tagja, monocita kemotaktikus fehérje 3, kemokin (C-C motívum) ligand 23, nukleáris faktor kappa-B esszenciális modulátor, karcinoembrionális antigénhez kapcsolódó sejtadhéziós molekula 8, spondin 2, szuperoxid-dizmutáz, glikoxaláz 1, oszteoklaszt-asszociált immunglobulinszerű receptor, poli-ADP ribóz-polimeráz-1, jelátvivő adapter molekula és eukarióta iniciációs faktor.

A nem-parametrikus Mann-Whitney U-teszt szerint kilenc fehérje mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget a két csoport között: TNFRSF10A  $p=0,033$ ; TNFRSF11A  $p=0,018$ ; IL-18  $p=0,014$ ; polimer immunoglobulin receptor  $p=0,033$ ; prolargin  $p=0,023$ ; MMP12  $p=0,016$ ; IL8  $p=0,03$ ; MCP-1  $p=0,023$ ; CCL3  $p=0,019$ . A PIGR kivételével valamennyi fehérje mennyisége növekedést mutatott a szövődményes csoportba tartozó mintákban. Az elemzés kevés kapcsolattal rendelkező hálózatot mutatott és a feldúsult útvonalak az immunválaszhoz kapcsolódtak.

Annak érdekében, hogy több információt kapjunk a sebgyógyulást szabályozó eseményekről és nyomon követhessük az idő és/vagy a szövődmények hatásait a relatív fehérjeszintekre, szigorú, mélyreható statisztikai elemzést végeztünk lineáris kevert modell segítségével. Ami az idő hatását illeti, az IL-6 és az MMP-1 szintje statisztikailag szignifikáns módon változott. Mindkét fehérje szintje statisztikailag szignifikáns módon emelkedett az első posztoperatív napon, magas maradt a második és a negyedik napon, majd három hónappal a műtéti beavatkozás után visszatért az eredeti szintre. A mintavételi napok közötti összehasonlítás tekintetében a változások statisztikailag szignifikánsak voltak. A

szövírdményekkel járó és a szövírdménymentes csoport közötti változások statisztikailag nem voltak szignifikánsak.

A technológiai fejlesztésekkel várhatóan mind a képkalkotó eszközök mind pedig a biokémiai módszerek pontosabb és precízebb információkat fognak szolgáltatni a könny struktúrális és funkcionális változásairól, azonban további nagyobb esetszámú vizsgálatok szükségesek ezen módszerek széleskörű klinikai alkalmazását lehetővé tevő irányelvek kidolgozásához.

## 5. Főbb eredmények és következtetések

### Lacrydiag®

- A képkalkotó vizsgálat során a vizsgálat ismételhetsége megbízható volt, és ez az LTMH esetében nagyon jó korrelációt mutatott a két vizsgáló között is. Ellenben a többi paraméter esetén jobb eredményeket kaptunk, ha a vizsgálatot ugyanazon személy végezte, ezért a követéses vizsgálatot javasolt egy személynek végeznie.
- A NIBUT és a TBUT összehasonlításának enyhe egyetértési mutatója miatt érdemes a követést ugyanazon módszerrel végrehajtani.
- A LacryDiag® műszer nyújtott vizsgálatok nem-invazívak, a vizsgálati eredmények video- és képrögzésével standard módon segítik a beteg nyomon követését.

## Proximity extension assay

- Eredményeink azt mutatták, hogy a szövődményes betegcsoport mintáiban a sebgyógyulás különböző fázisaiban szerepet játszó fehérjék kvalitatív és kvantitatív szempontból is emelkedést mutattak a szövődménymentes betegcsoportéhoz képest. Mindemellett több, elhúzódó sebgyógyulás esetén kis mennyiségben mérhető fehérje (pl.: GLO1, SOD2) szintjében is emelkedést tapasztaltunk. A sebgyógyulás zavartalan lefolyását reguláló fehérjék viszont ritkábban jelentek meg a szövődményes betegcsoport mintáiban. Összességében elmondható, hogy a könny fehérjéinek vizsgálatával következtetni lehet sebgyógyulás egyensúlyzavarának fennállására, mely késői műtéti komplikációkhoz vezethet.
- Az immunválaszban és a sebgyógyulásban szerepet játszó fehérjék megváltozott mennyiségben és/ vagy gyakoriságban jelennek meg a műtétet követően a két betegcsoport között.
- Elsőként vizsgáltunk könnymintát PEA módszerrel, adataink alapján a PEA alkalmas lehet több száz fehérje relatív mennyiségi meghatározására egyedi könnymintákban.

## 6. Az értekezés alapjául szolgáló és egyéb közlemények hitelesített listája



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/438/2021.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tóth Noémi  
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Tóth, N.**, Szalai, E., Rák, T., Lillik, V., Nagy, A. C., Csutak, A.: Reliability and clinical applicability of a novel tear film imaging tool.  
*Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 259 (7), 1935-1943, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-021-05162-8>  
IF: 3.117 (2020)
2. Csósz, É., **Tóth, N.**, Deák, E., Csutak, A., Tózsér, J.: Wound-Healing Markers Revealed by Proximity Extension Assay in Tears of Patients following Glaucoma Surgery.  
*Int. J. Mol. Sci.* 19 (12), 1-19, 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19124096>  
IF: 4.183

### További közlemények

3. **Tóth, N.**, Silver, D. M., Balla, S., Káplár, M., Csutak, A.: In vivo corneal confocal microscopy and optical coherence tomography on eyes of participants with type 2 diabetes mellitus and obese participants without diabetes.  
*Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* [Epub ahead of print], 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-021-05251-8>  
IF: 3.117 (2020)
4. Szalai, E., **Tóth, N.**, Kolkedi, Z., Varga, C., Csutak, A.: Comparison of various intraocular lens formulas using a new high-resolution swept-source optical coherence tomographer.  
*J. Cataract. Refract. Surg.* 46 (8), 1138-1141, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/j.jcrs.0000000000000329>  
IF: 3.351





5. Csósz, É., Deák, E., **Tóth, N.**, Traverso, C. E., Csutak, A., Tőzsér, J.: Comparative analysis of cytokine profiles of glaucomatous tears and aqueous humour reveals potential biomarkers for trabeculectomy complications.  
*FEBS Open Bio.* 9 (5), 1020-1028, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/2211-5463.12637>  
IF: 2.231
6. Deák, E., Szalai, E., **Tóth, N.**, Malik, R. A., Berta, A., Csutak, A.: Longitudinal changes in corneal cell and nerve fiber morphology 2 in young patients with type 1 diabetes with and without diabetic 3 retinopathy: a 2-year follow-up study.  
*Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 60 (2), 830-837, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1167/iovs.18-24516>  
IF: 3.47
7. Csutak, A., **Tóth, N.**: A száraz szem és a szisztémás betegségek közötti kapcsolat.  
*Háziorv. továbbk. szle.* 23, 15-19, 2018.
8. **Tóth, N.**, Csutak, A., Hassan, Z., Deák, E., Módis, L., Németh, G.: Comparing Refractive and Scheimpflug-image Based Parameters between Right and Left Eyes and between Dominant and Non-dominant Eyes Related to Handedness.  
*OR.* 9 (3), 1-8, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.9734/OR/2018/46026>
9. Csutak, A., **Tóth, N.**: Gyulladt száraz szem.  
In: A száraz szem kezelése. Szerk.: Berta András, Csutak Adrenne, Kolozsvári Bence, Módis László, Bauch & Lomb, [s.l.], 4-11, 2017.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 19,469**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
7,3**

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, 2021.09.13.



## 7. Köszönetnyilvánítás

Hálás szívvel szeretném megköszönni témavezetőmnek és mentoromnak, Dr. Csutak Adrienne Professzornőnek a magas szintű szakmai támogatását, folyamatos bátorítását és a sok közös munkát, mely a PhD képzést követően is tovább folytatódik.

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Berta Andrásnak, hogy a PhD munkám elvégzését lehetővé tette a vezetése alatt álló Klinikán.

Köszönöm Prof. Dr. Tózsér Józsefnek és Dr. Csósz Évának, valamint a DE-ÁOK Biokémiai Intézet Proteomikai laborjának a közös kollaborációt, valamint a munkacsoportba történő befogadásukat.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Németh Gábor Főorvos Úrnak, hogy a TDK hallgató éveim alatt megmutatta a szemészet szépségét és elindított ezen az úton.

Köszönettel tartozom minden szerzőtársamnak, különös tekintettel Dr. Szalai Eszternek.

Köszönöm a Debreceni Egyetem Szemklinika és a Pécsi Tudományegyetem Szemészeti Klinika dolgozóinak, valamint a kutatásban résztvevők türelmét és közreműködését.

Férjem, valamint Szüleim mindvégig mellettem álltak, a felém tanúsított támogatásuk és lelkes ösztönzésük nagyban hozzájárult az elképzeléseim megvalósításához.