

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Steiber Zita

Plazminogén aktivátor inhibitorok szerepe a corneális sebgyógyulási folyamatokban



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2015.

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Plazminogén aktivátor inhibitorok szerepe a corneális sebgyógyulási
folyamatokban**

Dr. Steiber Zita

Témavezető: Dr. Csutak Adrienne



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2015.

Tartalomjegyzék

Rövidítések és mozaikszavak jegyzéke	5
1. BEVEZETÉS	6
1.1. Célkitűzéseink.....	14
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	16
2.1. A látásélesség javítását célzó eszközökről és beavatkozásokról	16
2.2. A lézerkezelés hatása a szaruhártya rétegeire	18
2.3. A plazminogén aktivátor-plazmin rendszer.....	20
2.3.1. Plazminogén aktivátorok és azok inhibitorainak változása a corneális sebgyógyulásban	21
2.3.2. A plazminogén aktivátor/aktivátor inhibitor rendszer változása a terhesség alatt.....	27
3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	29
3.1.1. Excimer lézerkezelésen átesett páciensek	29
3.1.2. Terhes pácienseink.....	29
3.2. Lézerkezelések.....	30
3.2.1. Pre-és posztoperatív kezelés, kontroll vizsgálatok, a corneális stromahomály értékelése lézerkezelésen átesett páciensek esetében	31
3.2.2. Terhesek kontroll vizsgálata	32
3.3. Könymintavétel lézerkezelt páciensek és terhesek esetében	32
3.4. Vérvétel terhesektől.....	33
3.5. Plazminogén aktivátor inhibitor meghatározás	33
3.6. Ösztradiol és progeszteron meghatározása	35
3.7. Statisztikai módszerek.....	35
4. EREDMÉNYEK	36
4.1. PAI mennyisége humán könnyben refraktív lézeres beavatkozást követően	36
4.2. A PAI-1 és PAI-2, az ösztradiol és progeszteron mért értékek szintjének változása terhes nők könny-és vérmintáiban.....	39
5. MEGBESZÉLÉS	43
6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	46
7. SUMMARY OF NEW RESULTS	48
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	49
9. IRODALOMJEGYZÉK	51

10. FÜGGELÉK	62
---------------------------	-----------

Rövidítések és mozaikszavak jegyzéke

ArF: Argon-fluorid

ECLIA: electro-chemiluminescence immunoassay

ELISA: enzyme-linked immunoassay (enzim-kötött immunoassay)

Epi-LASIK: epithelialis lézer asszisztált in situ keratomileusis

LASEK: lézer asszisztált epithelialis keratomileusis

LASIK: lézer asszisztált in situ keratomileusis

PA: plazminogén aktivátor

PAI: plazminogén aktivátor inhibitor

PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1

PAI-2: plazminogén aktivátor inhibitor-2

PRK: photorefractive keratectomy (fotorefraktív keratektómia)

SD: standard deviáció

tPA: szöveti típusú plazminogén aktivátor

uPA: urokináz típusú plazminogén aktivátor

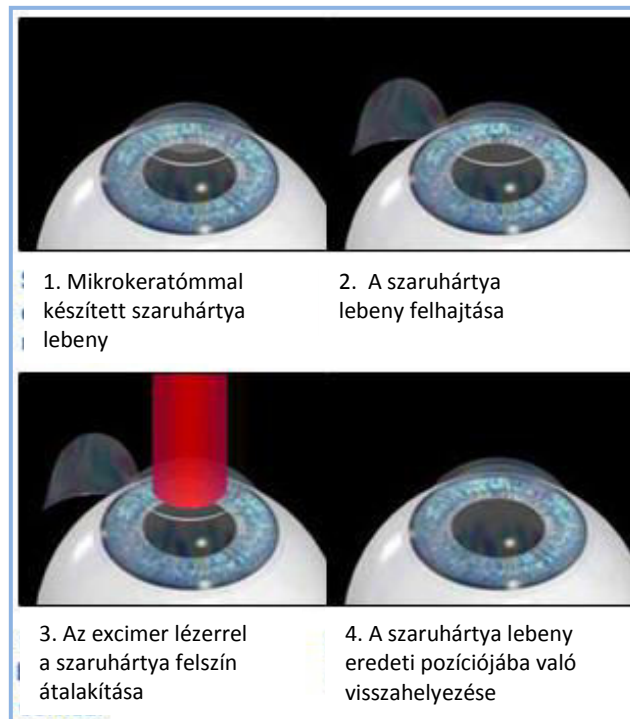
Ezen módszert követően a leggyakoribb, akár a későbbi látásélességet is csökkentő komplikációk a refrakciós regresszió és a szubepiteliális homályok (haze) kialakulása a szaruhártyában [7,8] (2. ábra). A haze kialakulására a lézerkezelést követő első, illetve a harmadik és hatodik hónap közötti időszakban kell leginkább számítani [9], de ennél később kialakult haze-ről is beszámol az irodalom [10]. A haze incidenciája igen tág határok között mozog, az irodalomban 0,6%-tól akár 29 %-ig is találunk adatokat [11,12]. A haze kialakulását több tényező is befolyásolja. Ezen tényezők egyike a szükséges korrekció nagysága, amely az ablációs mélységet is befolyásolja. Minél nagyobb a korrigálandó refrakciós hiba, annál nagyobb valószínűséggel jön létre szubepiteliális homály [13]. Úgy tűnik, az életkor nem befolyásolja a haze kialakulását [14], de a PRK során használt lézerkészülék típusa annál inkább [15]. A hámfosztott cornea re-epitelizációja a 4-5. posztoperatív napra általában befejeződik, de az epitélium a teljes vastagságát csak a 6. hónapra nyeri vissza [9]. A re-epitelizációt követő haze kialakulásának pontos patológiai háttere nem ismert, de valószínűleg a stromában aktiválódó keratociták és a bevándorló gyulladásos sejtek felelősek kialakulásáért. Ezek az aktivált keratociták a normálistól eltérő kollagén fibrillumokat termelnek, miáltal a stroma megvastagszik. A vastagodás a szaruhártya törőerejének megváltozását okozza, és myopiás regresszió alakul ki [16]. Hasonló jellegű elváltozások az epitéliumot is érinthetik, mely szintén oka lehet a myopiás regressziónak [17,18].



2. ábra. Haze kialakulása a szaruhártyában a posztoperatív 1. hónapot követően.

[Forrás: saját anyag]

Az excimer lézerkezelések általunk vizsgált másik típusa a LASIK kezelés, melynek klinikailag is hatékony, máig használt változatát Pallikaris dolgozta ki és az első humán eredményekről az 1990-es években számolt be [19,20]. Ezen kezelés lényege, hogy egy 110-180 μm stromavastagságú szaruhártyalebenyt készítenek, lokális érzéstelenítés mellett, melyet nem vágnak át teljesen, az egy nyéllel kapcsolódik a corneához. A lebeny tartalmazza a szaruhártya epitélium rétegét, a Bowman-membránt és a stroma felső kb. 1/3 részét. A technikának köszönhetően a cornea epitélium rétege nagyrészt "érintetlen" marad. A felemelt lebeny területében excimer lézer segítségével fotoablációt végeznek a stromában—ezen lépés a PRK kezelésnél alkalmazott fotoablációnak felel meg –, majd a lebenyt visszahajtják eredeti helyére. A LASIK kezelés fentiekben részletezett legfontosabb lépéseit sematikusán a 3. ábra jeleníti meg.



3. ábra. A LASIK kezelés sematikus ábrája [21].

A LASIK kezelés előnye a PRK-val szemben, hogy az epitélium, a felszínes szaruhártyaidegek, valamint a Bowman-membrán megkíméltek maradnak, így a posztoperatív fájdalom minimális, kisebb a refrakciós regresszió és a stromális keratociták aktivációja is jóval kisebb mértékű [22,23]. A legtöbb közlemény LASIK kezelést követően látásélességet csökkentő stromahomályról nem számol be. A látásélesség javulása gyors, csupán néhány napot vesz igénybe, bár az első néhány hétben a vízus bizonyos mértékű fluktuációja létrejöhet [24]. Hátrányai lehetnek intraoperatívek, mint a lebenyvesztés - a lézerek fejlődésének eredményeként napjainkban gyakorlatilag ma már nem fordul elő -, az inkomplett lebeny, vagy akár a cornea teljes perforációja. Hosszabb távon, igen ritkán, a lebeny elvesztése vagy az epitélisejtek stromaágyba vándorlása következtében epiteliális benövés és interface depozitumok alakulhatnak ki, melyek a corneális transzparenciát veszélyeztethetik [25]. A lebeny készítése során alkalmazott nagyobb energia, valamint a nagyobb lebeny átmérő esetében gyakrabban alakul ki diffúz lamelláris keratitis. Ez a gyulladás elérheti a 12,4 %-ot és a posztoperatív szakban a látásélesség romlását okozza [26]. Ezenkívül beszámoltak refraktív komplikációkról is,

mint pl. az alulkorrekcióról, a regresszióról, astigmia kialakulásáról. Ismert, nem kívánt mellékhatások lehetnek különböző vizuális jelenségek kialakulásai, melyek közé tartozik a glare/starburst és halo-k, melyet a könnyebb elképzelhetőség érdekében a 4. ábra jelenít meg. Ezek kialakulása akár az esetek 12 %-ában is előfordul, jóval gyakrabban, mint PRK esetében [27-29].



4. ábra. LASIK kezelést követően esetlegesen kialakuló vizuális jelenségek [30].

A lebeny készítése során továbbá a corneában szenzoros denerváció jön létre, mely száraz szem kialakulásához vezethet [31].

A LASEK során a PRK és LASIK bizonyos elemei kombinálódnak. A lézerkezelés a szemfelszín lokális érzéstelenítése után a corneális epitélium alkoholos átítatásával kezdődik. E művelet során a külső corneális epiteliális réteg fellazul, majd a sebész ezt a fellazult réteget elmozdítja, de nem távolítja el, a kezelendő területről (5.ábra). Az elmozdított rétegek területében excimer lézer segítségével fotoablációt végeznek a stromában, majd az epiteliális sejtrétegeket visszahelyezik a kezelt területre az eredeti pozícióba.



5. ábra. A LASEK kezelés alkoholos átitatásának sematikus ábrázolása, az epitélium egy rétegben történő "felemelése" érdekében [32].

A gyógyulásig terápiás kontaktlencse kerül/kerülhet a szaruhártya felszínére. A LASEK technika eredményesen alkalmazható nagyfokú myopiában, vékonyabb cornea vagy különböző retinális patológias folyamatok esetében [33-35]. Az alkohol epitéliumra gyakorolt kedvezőtlen hatása miatt (sejtlízis, proliferáció gátlás, indukált apoptózis) ezt a műtéti típust napjainkban ritkán, válogatott esetekben alkalmazzák [36].

Az Epi-LASIK eljárás a LASIK és LASEK excimer lézeres szemműtétek előnyeit próbálja egyesíteni. Az eljárás lényege, hogy egy speciális mikrokeratómmal, a LASIK eljárásnál leírtakhoz hasonlóan, egy szaruhártya epitél lebeny képzése történik 40 mikrométer vastagságban. A lamella felhajtását követően, a lamella területében megtörténik az excimer lézer abláció a stromában, miután a lebenyt visszahelyezik eredeti helyére [37].

Ennek a módszernek a PRK-val szembeni előnye a gyorsabb és kevesebb fájdalommal járó gyógyulás. A LASEK-vel szembeni előnye, hogy nélkülözi az alkohol kedvezőtlen hatását a szaruhártyára [38]. LASIK-vel szembeni előnye, hogy vékonyabb szaruhártyák esetében is elvégezhető. Azonban az utóbbi eljárással szembeni hátránya, hogy nagyobb a műtét utáni kellemetlen érzés.

Napjainkban a két legelterjedtebb excimer lézerkezelési módszer a szemészetben a PRK és LASIK kezelés, amely módszereket mi is vizsgáltuk tanulmányunk során.

Mai tudásunk szerint, a corneális sebgyógyulási folyamatokat két nagy rendszer szabályozza aktivátorok és inhibitorok segítségével. Az egyik rendszer a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer, melynek jelentősége a kollagén lebontásban, degradációban és a károsodott extracelluláris mátrix eltakarításában van [39,40]. A másik rendszer a plazminogén aktivátor inhibitor rendszer az aktivált keratociták segítségével újonnan szintetizálódó kollagén fibrillumok létrehozásáért felel [41–43]. A fenti rendszerek megfelelő működése elengedhetetlen a re-epitelizáció, a megfelelő corneális sebgyógyulás szempontjából. A két rendszer egyensúlyának felborulása elhúzódó, kóros sebgyógyulást, súlyos esetben szaruhártya fekélyképződést idézhet elő [44–48].

Csutak és munkatársai 2000-ben számoltak be az urokináz típusú plazminogén aktivátor (uPA) aktivitás mintázatának változásáról humán könnyben PRK kezelést követően. Megfigyelték az uPA aktivitás csökkenését közvetlenül a lézerkezelést követően, majd a preoperatív értékeket meghaladó emelkedést a posztoperatív harmadik napra és az értékek visszatérését a preoperatív értékekre a posztoperatív ötödik napra. Ezt a mintázatot akkor látták, amikor hazé a posztoperatív szakban nem alakult ki [46]. Amennyiben a 3. posztoperatív napon az uPA aktivitás emelkedése elmaradt, a corneális sebgyógyulás folyamán a 3-6. posztoperatív hónapban hazé megjelenését figyelték meg.

Tovább vizsgálták a plazminogén aktivátorok változását és a hazé kialakulása közötti kapcsolatot állatkísérletben. A kísérletbe bevont nyulak mindkét szemén fotorefraktív lézerkezelést alkalmaztak és az egyik szemet a humán posztoperatív kezelésnek megfelelően kezelték, még a másik szemén, ugyanezen terápia mellett szerin-proteáz inhibitor (aprotinin, Gordox, Richter Gedeon Rt., Budapest, Magyarország) is

alkalmaztak annak érdekében, hogy a könnymintában csökkentsék az uPA szintet. Az így kezelt állatszemek könnymintáiban a korábban (humán vizsgálat) megfigyeltekhez hasonlóan a 3. posztoperatív napon észlelt aktivitás emelkedés elmaradt és haze kialakulását sikerült indukálniuk [47] a késői posztoperatív időszakra.

Ezen állatkísérletük során az egyik állat vemhes volt, ahol azt találták, hogy a humán szemeknek megfelelően alkalmazott kezelés során - kiefokú myopia fotorefraktív kezelése ellenére is - corneális stromahomály alakult ki. Felmerült, hogy a vemhes állat modellként szolgálhat a corneális haze tanulmányozására. Ezen feltételezésük bizonyításaként, valamint annak érdekében, hogy az uPA adásának hatását vizsgálják és ezáltal esetlegesen a későbbiekben kialakuló corneális haze-t megelőzzék, 8 vemhes állatot vontak be vizsgálatukba. Az állatok mindkét szemén PRK kezelést végeztek és az egyik szemet uPA-val kezelték a humán kezelés standard terápiájának kiegészítőjeként. Az így kezelt állatok esetében a posztoperatív stromahomály kialakulását minden esetben sikerült megelőzniük szemben az uPA-al nem kezelt szemekkel, ahol az esetek jelentős részében corneális stromahomály alakult ki [49].

Ez az eredmény, hogy a terhes nyulak többsége corneális stromahomállal gyógyult excimer lézerkezelést követően felvetette a terhesség és a kóros corneális sebgyógyulás kapcsolatának lehetőségét humán terhesekben is. Ezért kezdtük vizsgálni a terhesekben a könny plazminogén aktivátor inhibitorok szintjének változását.

A szervezetben a plazminogén aktivátorok működését plazminogén aktivátor inhibitorok gátolják, melynek két típusa a PAI-1 és PAI-2 ismert. A plazminogén aktivátor cascade számos fiziológiás és patológias folyamatban játszik szerepet, mint pl. a fibrinolízis, sebgyógyulás, gyulladáshos folyamatok, angiogenezis, ovuláció, neuronális plaszticitás és a malignus daganatok növekedése és inváziója, metasztatizása [50].

Az inhibitorok felszaporodása a vérben, antifibrinolitikus hatásuk miatt, trombózishoz vezethetnek. A normál terhesség együtt jár a fibrinolitikus aktivitás csökkenésével és a PAI-1 koncentrációjának megnövekedésével a vérben, így hozva létre egy hiperkoagulabilis állapotot.

A koagulációs aktivitás erősödik a terhesség előrehaladtával, különösen a 2. és 3. trimeszterben. A PAI-1 és, különösen, a PAI-2 koncentrációja, mint antifibrinolitikus faktor, a terhesség alatt folyamatosan növekszik már a korai terhességtől kezdve és komplexet képez mind a tPA-val, mind az uPA-val [51,52], ezáltal kevesebb plazminogén alakul át aktív plazminná és a fibrinolitikus aktivitás csökken [53]. A teljes fibrinolitikus aktivitás azonban a terhes nőkben állandó marad a tPA, uPA, PAI-1 és PAI-2 szintjeinek nagy változása ellenére [54].

A fenti eredmények birtokában kezdtük el vizsgálni a plazminogén aktivátor inhibitor-2 szintjének változásait refraktív lézersebészeti beavatkozásokat követően (PRK, LASIK), valamint egészséges terhes nőkben, hogy a kapott eredmények birtokában közelebb kerülhessünk a corneális sebgyógyulás hátterében zajló biokémiai folyamatok hátterének pontosabb megértéséhez.

1.1.Célkitűzéseink

1. Első célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a plazminogén aktivátor inhibitor szint változását a könnyben fotorefraktív lézerkezelést követően.
2. Második célunk volt, a plazminogén aktivátor inhibitor szint változásának összehasonlítása fotorefraktív keratektómiát és lézer in situ keratomileusist követően.

3. További célunk volt a plazminogén aktivátor inhibitor-2 szint változásának vizsgálata terhes nők könnymintáiban.
4. Végül megvizsgáltuk a terhesek vérében a plazminogén aktivátor inhibitor-2 szintjének változását, összehasonlítva ezen változásokat a könnymintákban mért értékekkel.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A látásélesség javítását célzó eszközökről és beavatkozásokról

A látáshibákat korrigáló szemüveg viselése, mely a XIII. század óta lehetséges, korábban a műveltség és gazdagság jelképe volt. Pisai és muranói üvegfúvó mesterek 1286-ban alkották meg az első bikonvex lencsét, mely presbyopia korrigálására szolgált [55]. Napjainkra a szemüveg mindenki számára életvitelszerűen elérhetővé vált. A szemüveg mellett a refrakciós hibákat átmenetileg kontaktlencse viseléssel korrigálhatjuk. A kontaktlencse viselése optikailag és kozmetikailag ugyan jó eredményt biztosít, de gondozása, tárolása sok kellemetlenséggel jár és megfelelő használata mellett is számos szövődménnyel társulhat, mint a corneális hipoxia, limbális neovaszcularizáció, a cornea felszínes sérülései, különböző fertőzések. Mind a szemüveg, mind a kontaktlencse eltávolítása a látásélesség ismételt, azonnali csökkenésével jár. Ezért is indulhattak rohamos fejlődésnek a mai napig egyre népszerűbb, a fénytörési hibák végleges korrekcióját jelentő excimer lézeres beavatkozások.

Az első sebészi korrekciós beavatkozások a XIX. század végén kezdődtek. Európában Lans német szemorvos (1898), Amerikában Bates (1894) próbálta meg az asztigmatizmust és a keratoconust sebészi módszerekkel kezelni. A mikrosebészeti eszközök hiánya miatt és a szaruhártya alapvető élettani tulajdonságainak ismerete nélkül az eredmények nem voltak előre tervezhetőek, sokszor a betegek látásélessége a kiindulási értékektől is rosszabb lett. A cornea élettanának megismerésével a sebészi korrekciót radialis keratotómia néven Fjodorov és Yenaliev kezdte újra alkalmazni az 1960-as évek végétől. A jelentős komplikációs ráta (hegesedés, véletlen intraoperatív perforáció,

káprázási panaszok éjszaka, stb.), a refrakciós instabilitás és a prediktabilitás hiánya miatt a módszer nem vált igazán elterjedté [56].

Schwalow és Townes munkásságát követően, az 1960-as évekre, Maiman megalkotta a gyakorlati alkalmazásra is került rubin lézert [57,58]. 1968-ban L'Esperance klinikai alkalmazás során mutatta be az argon lézert [59]. Ezeket a készülékeket azonban még nem refrakciós hibák korrigálására használták, és az 1980-as évekig a lézer technika nem is került a corneán végzett beavatkozások terápiás módszerei közé.

A fotorefraktív excimer lézerek működésének alapja a gerjesztett állapotú ArF gázkeverék által kibocsátott 193 nm hullámhosszúságú, ultraibolya-C tartományú elektromágneses sugárzás és a cornea kromofor (hosszú láncú polymer) molekuláinak interakciója [60,61]. A lézer-szöveti interakció alapja a 6,4 eV-os fotonenergia elnyelődése, amely elegendő a szerkezetet alkotó szerves vegyületek kovalens kötéseinek felbontására [62,63]. A laboratóriumi kísérletekre is alkalmas excimer lézer 1981-ben vált elérhetővé. Kizárólag az excimer lézerek tulajdonsága, hogy az elektromágneses sugárzás ultraibolya-C tartományban a lézersugár egyetlen fotonjának is elegendő az energiája molekuláris kötések (szén-szén, szén-nitrogén, szén-hidrogén) felbontásához. Amikor a lézertény energiasűrűsége egy kritikus szintet meghalad, a felbomlott kémiai kötések nem alakulhatnak ki újra, a szövet ablatív módon lebomlik [62].

Munnaerlyn 1984-ben megállapította, hogy 5 μm stromális szövet fotoablálása 1,0 D törőerő-változást okoz. A fotorefraktív keratektómia kifejezést is ő használta először, és döntötte meg azt az évszázadokig axiómaként élő fogalmat, hogy a Bowman-membrán elengedhetetlen a corneális transzparencia fenntartásában [64]. Az első sikeres humán fotorefraktív lézerkezelést látó szemén Marguerite McDonald végezte 1988-ban.

Az excimer lézeres fotorefraktív beavatkozások közül a Laser In Situ Keratomileusis első, klinikailag is hatékony, használható változatát Pallikaris dolgozta ki [19]. Minden olyan szaruhártyán végzett beavatkozást, mely során egy lamellaris corneális kimetszés készítése után a cornea görbületi sugarának megváltoztatásával a refrakció is megváltozik, keratomileusisnak nevezünk.

2.2. A lézerkezelés hatása a szaruhártya rétegeire

A corneális *hámrétegben* fotorefraktív keratektómia után a hámregeneráció néhány órán belül megkezdődik és néhány órás látens periódust követően a lézerkezelt, hámmentes terület széli részein a hámsejtek megnyúlnak, mitotikus aktivitásuk megnő és a befedendő terület felé kúsznak [65]. A lézerkezelés után a hámfosztott területet a hámsejtek kb. 1-3 nap alatt fedik be, de még kb. 3 hónap van szükség a végleges adhéziós struktúrák kialakulására.

Állatkísérleteben a posztoperatív első napon fibrinogén és fibronectin mutatható ki a lézerkezelt területen [66,67], melyek mintegy „odaragasztják” a regenerálódó epitélisejteket az alapjukra. Az újonnan képződött epitélisejtekben rendellenességet nem lehetett kimutatni sem morfológiai sem immunhisztokémiai vizsgálatokkal [68–74]. Néhány esetben, ma sem teljesen ismert okokból, a regeneráció során a hámréteg hiperpláziássá válhat, ami jelentős mértékben módosíthatja az előre eltervezett törőerő változást. A hámhiperpláziát LASIK módszerrel végzett beavatkozással védhetjük ki. A beavatkozás során a 110–180 µm vastagságú lebeny készítését sebészi mikrotómmal végezzük, a lézerkezelés után azt visszahajtjuk, ezáltal a kezelés területén a hámréteg, a basalmembrán és a Bowman-membrán is intakt marad. Ebben az esetben nincs szükség a teljes hámréteg regenerációjára, mint PRK esetében, így LASIK során ezek a hámrendellenességek nem jönnek létre.

A *Bowman-membrán* regenerációja a PRK kezelés után nem lehetséges. Ismert tény, hogy a membránt ért sérülés a szaruhártya opacifikációját okozó hegképződéssel gyógyul. Irodalmi adatok szerint azonban mintegy 6,0 D kezelési tartományig a szaruhártya transzparenciájának fenntartásához a Bowman-membrán intakt volta nem elengedhetetlen [75–77]. LASIK kezelés során a Bowman-membrán az optikai zónában intakt marad, így ott a membrán sérülése miatt opacifikáció nem alakul ki.

A corneális *stromában* a PRK kezelést követően a fotoablált területen vékony elektrodenz pszeudomembrán alakul ki, mely a sebgyógyulás későbbi szakaszában eltűnik [78–80]. A pszeudomembrán eltűnésével párhuzamosan új kollagén és proteoglikán képződés indul meg és a lézerkezelést követő 24 órával a stromában polimorfonukleáris granulociták jelennek meg. A könnyfilm plazminogén szintje megemelkedik, a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer aktiválódásával elkezdődik a sejtörmelékek eltávolítása és a károsodott extracelluláris mátrix és kollagén kijavítása, új kollagén fibrillumok képzése [8]. A plazminogén aktivátor inhibitorok aktiválódása következtében aktiválódott stromális keratociták fokozott szintetizáló tevékenysége hegképződést, így stromahomályok kialakulását idézheti elő, valamint a normálistól eltérő új kollagén miatt a cornea megvastagodását okozhatja, így a kívánt refrakciós hatás gyengülhet, myopiás regresszió alakulhat ki [70–72].

A LASIK kezelés során a szaruhártya legfelső rétegét megkíméljük, így a stromális keratociták metabolikus aktivációja sokkal kisebb mértékű. Ezáltal az esetleges haze kialakulásának esélye jelentősen lecsökken. Az eljárás másik előnye, hogy a centrális kezelési területen az epitélium, a Bowman-membrán és az elülső stromális réteg nem sérül, ezáltal a haze-képződést is elősegítő ultraibolya-B sugárzás ezen ép rétegekben elnyelődik, még mielőtt elérné a LASIK során érintett mélyebb stromális rétegeket.

Mivel az excimer lézerkezelés során használt ultraibolya-C lézersugár penetrációs képessége kb. 1 μm , így az ablációs mélység nagyon pontosan szabályozható, ezért a *Descemet-membrán* és az *endotél* réteg közvetlen sérülésére sem PRK, sem LASIK kezelés során sem kell számítani. Ennek ellenére nyúlkísérletek során PRK kezelést követően fibrilláris választ mutattak ki a Descemet-membránban, melynek hátterében sok hullám általi hatást feltételeztek [70,71].

2.3. A plazminogén aktivátor-plazmin rendszer

Emlősökben a plazminogén aktivátor rendszer több szinten kontrollált. Ezek közül az egyik legfontosabb a plazminogén aktivátor aktivitás inhibitoraik általi gátlása. A plazminogén aktivátorok specifikus szerin proteinázok, melyek a humán szervezetben a plazminogén Arg₅₆₀-Val₅₆₁ közötti kötésének felhasításáért felelősek, így az inaktív plazminogén aktív plazminná átalakításáért, ezáltal katalizálva az extracelluláris proteolízist [81,82]. A plazminogén aktivátorok két típusa a szöveti típusú plazminogén aktivátor (tPA) és az urokináz típusú plazminogén aktivátor (uPA).

A *tPA* a vér fibrinolitikus aktivitásában játszik elsődleges szerepet. Működéséhez fibrin kofaktorra van szüksége. Termeléséért és a vérbe történő szekretálásáért elsősorban a vaszkuláris endotél sejtek felelősek. Gátlásában legfontosabb a plazminogén aktivátor inhibitor-1.

Az *uPA* elsődleges szerepe az extracelluláris proteolízisben van, és nagy valószínűséggel szerepet játszik a tumorok metasztázis képzésében, inváziójában is. Működéséhez fibrin kofaktorra nincs szükség [83]. Az uPA-t endoteliális sejtek, makrofágok és különböző típusú leukociták szintetizálják. Az uPA a könny egyik komponense, melyet a conjunctivális és corneális epiteliális sejtek termelnek [84]. Az uPA

aktivitás megnő különböző corneális megbetegedések, pl. fekély jelenlétekor és a corneális sebzéssel járó refraktív lézerkezeléseket követően is, mely arra utal, hogy a fibrinolitikus rendszer szerepet játszik a szem sebgyógyulási folyamataiban [46]. Több, a corneális seb reepitelializációjával foglalkozó vizsgálat számolt be az uPA és receptorai jelenlétéről a keratinocitákban [85,86]. Gátlásában a plazminogén aktivátor inhibitor-2 játssza a legnagyobb szerepet.

2.3.1. Plazminogén aktivátorok és azok inhibitorainak változása a corneális sebgyógyulásban

A cornea transzparenciájának csökkenését láthatjuk sérülések, műtétek utáni hegesedés, cornea degeneráció vagy disztrófia, különféle gyulladósos megbetegedések vagy egyes gyógyszer mellékhatások (pl. epinefrin) esetében. Ritkán előfordulhat, ahogy arról korábban beszámoltunk, hogy a corneális pigmentáció az irismelanomából származó, az elülső csarnokba került pigmentgranulumok endotélsejtek általi fagocitózist és Descemet-membránon keresztüli transzportját követően, a stromában jön létre. Ezekben az esetekben a limbális területekről a corneális stromába vándorolt makrofágokban és néhány keratocitában láthatjuk a bekebelezett pigment szemcséket. A pigmentet tartalmazó makrofágok lassú clearance a limbusban kezdődik és halad a centrum felé, a pigmentet tartalmazó keratociták pedig a stromában maradnak, így okozva a cornea transzparenciájának csökkenését, végső soron a látásélesség romlását (87).

Mai tudásunk szerint, a corneális sebgyógyulási folyamatokat két nagy rendszer szabályozza aktivátorok és inhibitorok segítségével. Az egyik rendszer a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer, melynek jelentősége a degradációban és a károsodott extracelluláris mátrix eltakarításában van [72]. A másik rendszer az aktivált keratociták rendszere, a károsodott kollagén struktúrák helyén újonnan szintetizálódó kollagén

fibrillumok és a kollagén fibrillumokat körülvevő glükóz-aminoglikán mátrix létrehozásáért felel [42]. A fenti rendszerek megfelelő működése elengedhetetlen a re-epitelizáció szempontjából. A két rendszer egyensúlyának felborulása elhúzódó, kóros sebgyógyulást, súlyos esetben szaruhártya fekélyképződést idézhet elő [44–48,88].

Plazminogén aktivátor termelésére a szaruhártya, kötőhártya és könnymirigy sejtei is képesek [85]. A szaruhártyában található plazminogén aktivátor urokináz típusú, míg a könnymirigy csak szöveti típusú plazminogén aktivátor termelésére képes [45,89-91]. A kötőhártyában mindkét típusú aktivátor kimutatható. Ezekben a szövetekben az uPA valószínűleg a szaruhártya és a kötőhártya hámsejtjeiből származik, míg a tPA-t a kötőhártya vaszkuláris endotél sejtei termelik [90,91]. Tudjuk, hogy a normál könny nagyon alacsony koncentrációban tartalmazza a proteináz inhibitorokat, azonban bizonyos szemészeti megbetegedésekben (pl.: szaruhártyafekély, vernalis keratoconjunctivitisek) szenvedő betegek könnyében ezen inhibitorok koncentrációja jelentős mértékben megnő, és a normál szintre csak a gyógyulást követően tér vissza [47,92,93].

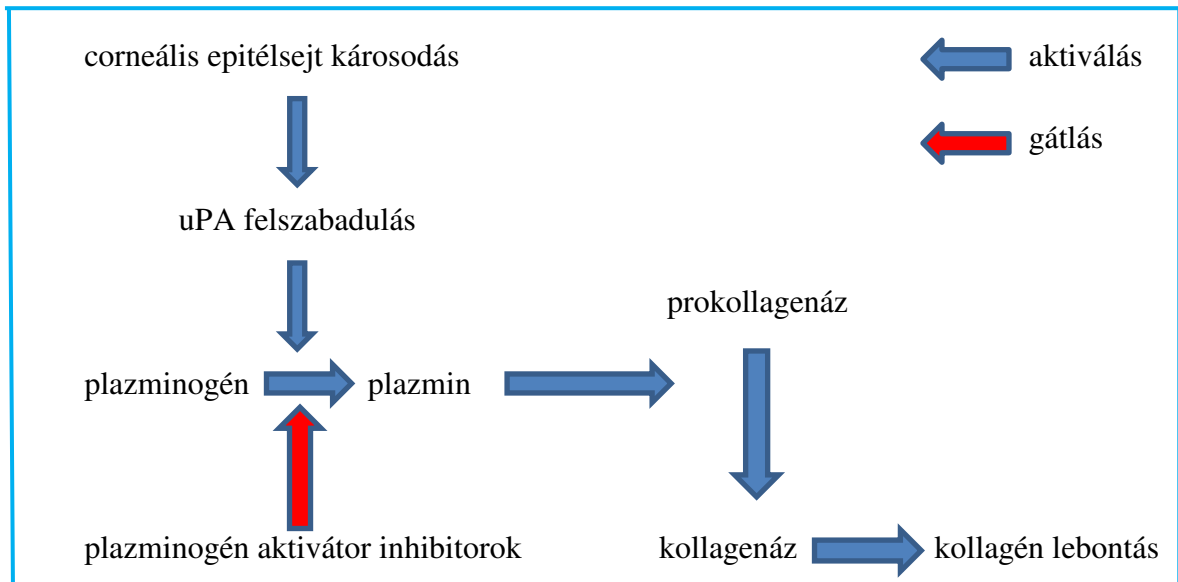
A normál könnyben nagyon kismértékű uPA aktivitást mérhetünk [94], és tPA aktivitás gyakorlatilag nem detektálható. Normál könnyben PAI-1-t nem sikerült kimutatni [92], így feltételezzük, hogy a PAI-2 játszik szerepet a szem elülső szegmentumának hámsejtjei által termelt uPA gátlásában [95].

A szaruhártya és a kötőhártya hámsejtjeinek károsodása során (pl. gyulladós folyamatok, egyes műtéti beavatkozások) a könnybe nagyobb mennyiségű uPA kerül. Az uPA képes a könnyben levő plazminogént aktiválni, plazminná alakítani, mely folyamat ellen dolgoznak az inhibitorok.

A keletkező aktív plazmin, amennyiben nem inaktiválódik, számos folyamatot indíthat el a szem elülső felszínén (pl. a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer

segítségével aktivált kollagenázzal együttesen a cornea alapállományát alkotó kollagén lebontása révén, fekélyek kialakulásához vezethet). Kóros, a szem elülső felszínét érintő állapotokban (pl. conjunctivitis, keratitis stb.) általában fokozódik a kötőhártya erek permeabilitása, miáltal proteinázok proenzim formái és proteináz inhibitorok kerülhetnek a könnybe. Amennyiben a károsodás olyan szintet ér el, hogy az uPA aktivitás a transzudációval a könnybe kerülő inhibitorokat kimeríti, a könny proteolitikusan aktívva válhat a plazmin folyamatos termelődése következtében. A nagy mennyiségű plazmin a prokollagenázt kollagenázzá aktiválja, melynek működése következtében akár corneális fekély is kialakulhat. Azonban a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer nem túlzott mértékű aktiválódása a sebgyógyulási folyamatok során elengedhetetlen. Aktiválódásuknak jelentős szerepe van a sejt- és szövegtörmelékek eltakarításában, valamint a károsodott kollagén és extracelluláris mátrix kijavításában.

A fentiek alapján elmondhatjuk, hogy a plazminogén aktivátor-plazmin rendszer kulcsszerepet tölthet be a szem elülső szegmentuma fehérjéinek patológiás folyamatok során bekövetkező degradatív lebontásában, hasonlóan más, extracelluláris fehérjebontó folyamatokhoz, mint pl. a malignus sejtinvázió [96,97]. Úgy tűnik, hogy az uPA-plazminogén-plazmin rendszer kulcsszerepet játszik a sebgyógyulási folyamatokban, az epitheliális defektusok patogenezisét is beleértve [96,97] (6. ábra). Bár a pontos mechanizmus, mely a sebészeti beavatkozások utáni corneális gyógyulási komplikációk alapja is, nem ismert, feltételezhető, hogy az egyéni variációk a corneális sebgyógyulás tekintetében szintén szerepet játszanak a sebészeti beavatkozást követő refraktív regresszióban és a corneális stromahomály (haze) kialakulásában [98].

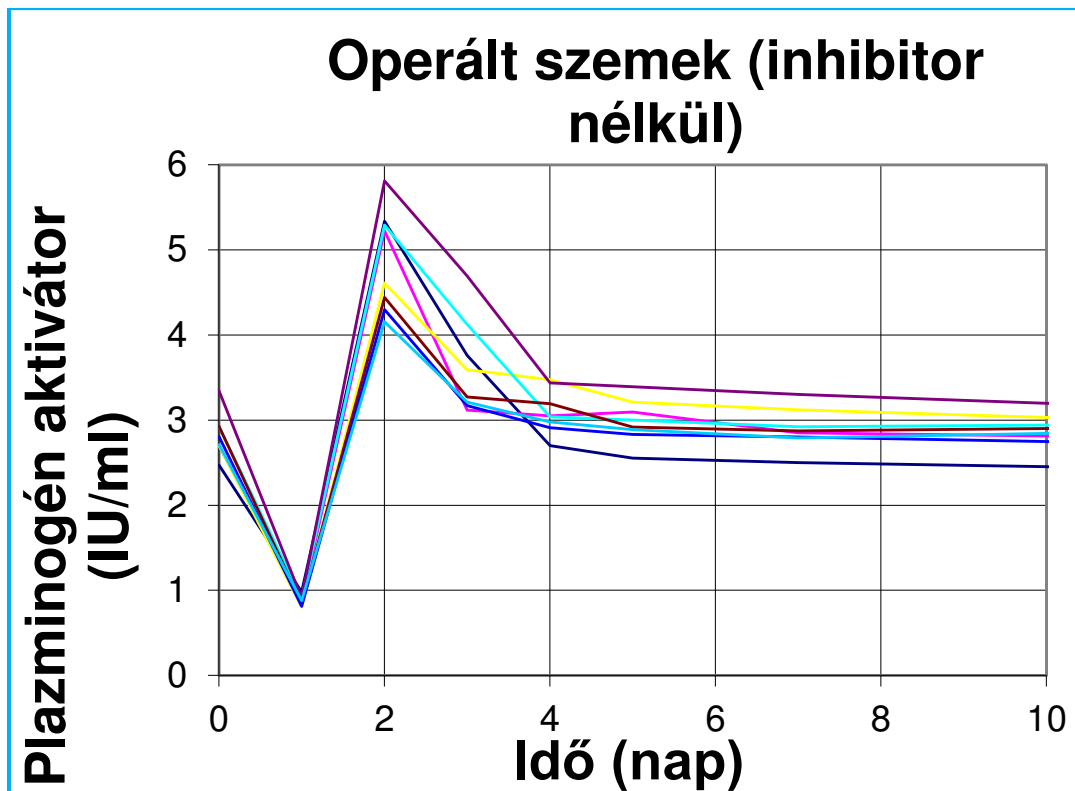


6. ábra. A sebgyógyulás alapját képező rendszerek a könnyben a szaruhártya sérülése során.

A plazminogén aktivátor-plazmin rendszer alacsony aktivitása elhúzódó sebgyógyuláshoz, akár krónikus epítél eróziókhöz vezethet [99].

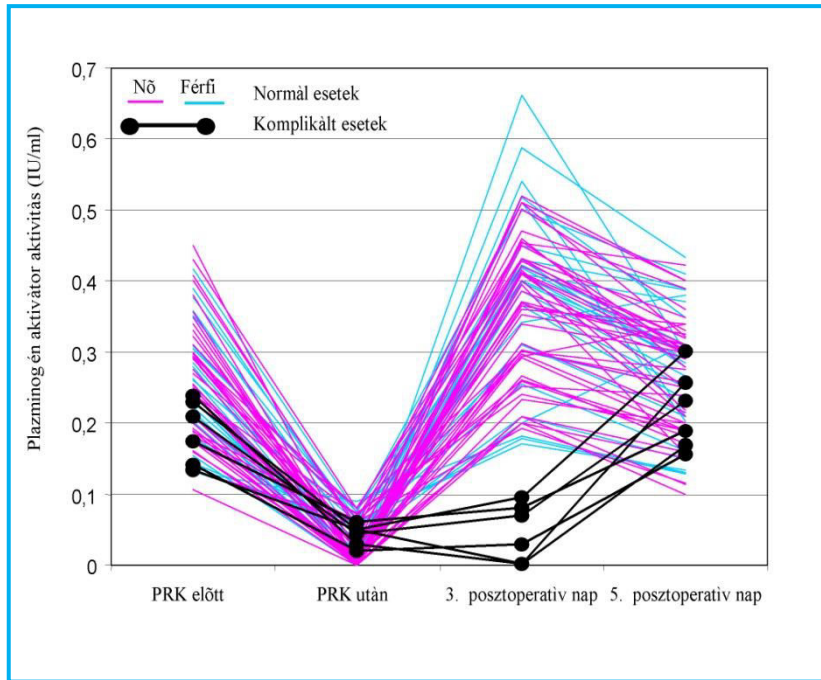
Csutak és munkacsoportja számolt be az uPA aktivitás jellegzetes mintázatáról humán könnyben PRK kezelést követően. A vizsgálat során megfigyelték az uPA aktivitás csökkenését közvetlenül a lézerkezelést követően, majd a preoperatív értékeket meghaladó emelkedést a posztoperatív harmadik napra és a posztoperatív ötödik napra az értékek visszatérését a preoperatív értékekre következményes haze kialakulása nélkül [46].

Hasonló uPA aktivitás mintázatot figyeltek meg nyulakban PRK kezelés előtt és azt követően a humán kezelésnek megfelelő terápia alkalmazása mellett (7. ábra) [47].



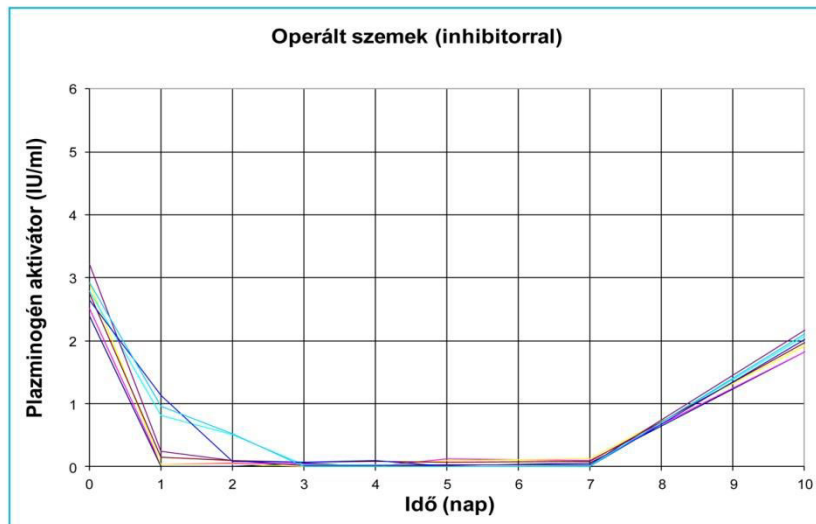
7. ábra. PAA változása nyúl könnymintákban PRK kezelést követően, a korai posztoperatív szakban, a humán kezelésnek megfelelő terápia alkalmazása mellett [100].

Ezzel ellentétben, amennyiben a posztoperatív harmadik napon alacsony uPA aktivitás volt mérhető a humán könnyben (6 PRK kezelést követő eset), haza alakult ki a sebgyógyulás késői posztoperatív időszakában 3-6 hónappal a beavatkozást követően, (8. ábra) [46].



8. ábra. PRK-t követő PAA változás a könnyben, normál és komplikált sebgyógyulás esetén [46].

Állatmodellben szerin proteináz inhibitorral gátolták az uPA aktivitását könnyben, mely kezelés hatására haza kialakulását sikerült előidézni a posztoperatív időszakban (9. ábra).



9. ábra. PAA változása nyúl könnymintákban, PRK után a korai posztoperatív szakban, szerin proteináz inhibitor alkalmazása mellett [100].

Hasonlóan haze kialakulásáról számoltak be, amikor a betegek szemét aprotininnel kezelték PRK kezelést követően [8,101]. A fentiek alapján feltételezhetjük, hogy az alacsony uPA aktivitás a kóros corneális sebgyógyulás egyik lehetséges oka. A nyulakon végzett vizsgálatok során plazminogén aktivátorok változását és a haze kialakulása közötti kapcsolatot megvizsgálták terhes nyulak fotorefraktív lézerkezelését követően is. A terhes nyulakban PRK kezelést követően 9 esetből 8 esetben corneális haze alakult ki, melynek kialakulását plazminogén aktivátor alkalmazásával meg tudták előzni [49].

2.3.2. A plazminogén aktivátor/aktivátor inhibitor rendszer változása a terhesség alatt.

A plazminogén aktivátorok működését plazminogén aktivátor inhibitorok gátolják, melynek két típusa a PAI-1 és PAI-2 ismert. A plazminogén aktivátor inhibitor-1-et a vaszkuláris simaizomsejtek, vérlemezkék és a májsejtek termelik. A plazminogén aktivátor inhibitor-2-t elsősorban a trofoblasztok termelik, és fontos szerepük van az uPA gátlásában terhesség alatt [102]. A fibrinolitikus inhibitorok felszaporodása trombózishoz vezethet. A normál terhesség együtt jár a hemosztázis csaknem minden résztvevőjének változásával [103,104]. A trombózis ritka az első trimeszterben, de a koagulációs aktivitás erősödik a fibrinolitikus aktivitás csökkenésével és a PAI-1 koncentrációjának megnövekedésével a vérben. Ez a folyamat folytatódik a terhesség előrehaladtával, különösen a 2. és 3. trimeszterben. Így elmondható, hogy a normál terhesség egy hiperkoagulabilis állapotot jelent.

Ez a hiperkoagulabilis állapot védi a nőt a végzetes vérzéstől szülés alatt, de predisponálja őket tromboembóliás megbetegedésekre is. Terhesség során az elsődleges fibrinolitikus komponensek, a tPA és az uPA mennyisége átmenetileg csökken az első és második trimeszter alatt, míg a harmadik trimeszterben az uPA koncentrációja jelentősen

megemelkedik a terhesség előtti koncentrációhoz képest [105,106]. A súlyosan csökkent fibrinolitikus aktivitás terhességben preeclampsziát, placenta abrupciót és intrauterin növekedési elégtelenséget okozhat [107]. A PAI-1 és, különösen, a PAI-2 koncentrációja, mint antifibrinolitikus faktor, a terhesség alatt folyamatosan növekszik már a korai terhességtől kezdve és komplexet képez mind a tPA-val, mind az uPA-val [50,51], ezáltal kevesebb plazminogén alakul át aktív plazminná, és a fibrinolitikus aktivitás csökken [53]. A mai napig nem tisztázott, hogy az első két trimeszterben mérhető plazminogén aktivátor szint csökkenés a csökkent szintézis, a fokozott turnover vagy az inhibitorokkal kialakult komplexek eredménye-e, de a biológiailag aktív tPA és uPA szintje mérhetően csökken [106,108]. A terhesség 32. hetében emelkedett uPA mennyiséget mérhetünk, mely azt sugallja, hogy a terhesség ezen fázisában az aktivátor fokozott szintézise jön létre. A teljes fibrinolitikus aktivitás a terhes nőkben állandó marad a tPA, uPA, PAI-1 és PAI-2 szintjeinek nagy változása ellenére [54,108].

A koagulációs aktivitás, az antikoagulációs aktivitás, a fibrinolitikus és antifibrinolitikus aktivitás is változik a normál terhességben, de ezek az aktivitások kiegyensúlyozottak. Ez a kiegyensúlyozottság és változás szükséges ahhoz, hogy az umbilikális artériában és az artéria uterinában a hemodinamika baba-baráttá váljon (magas áramlás, alacsony rezisztencia) a terhesség előrehaladtával.

A fentiekben már említettek szerint ezen eredmények birtokában kezdtük el vizsgálni a plazminogén aktivátor inhibitor-2 szintjének változásait refraktív lézersebészeti beavatkozásokat követően (PRK, LASIK), valamint egészséges terhes nőkben, hogy az általunk kapott eredmények birtokában közelebb kerülhessünk a corneális sebgyógyulás hátterének pontosabb megértéséhez.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1.1. Excimer lézerkezelésen átesett páciensek

A corneális sebgyógyulás vizsgálata során 38 páciens 46 szemén PRK (8 páciens mindkét szemén) és 8 páciens 13 szemén (5 páciens mindkét szemén) LASIK kezelés történt. A vizsgálatokat a Helsinki Declarioban foglaltaknak megfelelő, a helyi Etikai Bizottság által jóváhagyott etikai engedély birtokában, a betegbeleegyező nyilatkozat aláíratását követően végeztük. PRK esetében a műtét előtti refrakciós hiba átlag értéke $-4,11 (\pm 2,22)$ D, míg LASIK esetében $-5,13 (\pm 1,89)$ D volt. A preoperatív refrakciós hiba PRK és LASIK kezelésen átesett páciensek esetében kétmintás t-próbával vizsgálva nem mutatott szignifikáns különbséget ($p=0,152$). Azok esetében, akiknél mindkét szemből sikerült könnymintát venniük, a két szem közötti refrakciós hiba különbsége $1,2 (\pm 1,4)$ D volt. F-próbát használva összehasonlítottuk azon betegek refrakciós hibáját, akiknél mindkét szemén lézerkezelést végeztünk azokkal, akiknél csak egy szemén végeztük el a lézerkezelést, de szignifikáns különbséget ebben az esetben sem találtunk ($p=0,17$). A PRK-n átesettek átlagéletkora $26 (\pm 5)$ év volt, a LASIK-kel kezelt pácienseké pedig $28 (\pm 9)$ volt. Az átlagéletkorok között sem találtunk szignifikáns eltérést ($p=0,535$) t-tesztet használva.

3.1.2. Terhes pácienseink

További vizsgálatainkban terhesektől könny és vérmintákat gyűjtöttünk, a terhességük 8. és 36. hete között 4 alkalommal és 1 héten belül a szülést követően. A mintavételeket a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika ambulanciáján végeztük. A mintavételeket a Helsinki

Declaratioban foglaltaknak megfelelő, a helyi Etikai Bizottság által jóváhagyott etikai engedély birtokában, a betegbeleegyező nyilatkozat aláíratását követően végeztük.

A terhesek életkora 19-33 év között volt, átlag 27,42 ($\pm 4,13$) év.

A mintavételek 32 terhéstől történtek. 19 terhéstől vettünk könnymintát PAI-2 és 13 terhéstől PAI-1 meghatározásra. Vérminta levétele 25 terhéstől történt PAI-2 és 10 terhéstől PAI-1 meghatározásra. Az ösztadiol és progesztron meghatározását 17 terhes 51 vérmintáján végeztük.

Mindegyik terhesség normál terhesség volt szülés előtti és utáni szövödmények nélkül. Terhes pácienseink anamnézisében nem fordult elő vérképzőrendszeri vagy egyéb megbetegedés, gyógyszeresedés. Két terhes kismagú myopia miatt lágú kontaktlencsét viselt.

3.2. Lézerkezelések

A fénytörési hibák korrekcióját lokális érzéstelenítés mellett excimer lézerkezeléssel (193 nm Inpro ArF excimer lézer, Intraocular Prosthetic GmbH, Norderstedt, Germany) végeztük, melyet minden esetben ugyanaz a szemész szakorvos végzett.

PRK kezelés esetén a szaruhártya epiteliális sejtrétegének eltávolítására keratóm kést használtunk, markerként Hoffer trepánt alkalmaztunk, melynek átmérője szférikus korrekció esetén 6,0-6,5 mm, asztigmias korrekció esetén pedig 7,5-8,0 mm volt. Az epitélium lekaparását a cornea perifériájáról a centrum felé haladva óvatosan végeztük,

hogy lehetőleg elkerüljük a Bowman membrán sérülését. Az epitélium maradékok eltávolításához steril szivartampont használtunk.

LASIK kezelés esetében a corneális lebeny elkészítéséhez Hansatome Model HT 230 mikrokeratómot használtunk (Chiron). A lebeny 180 μm vastagságú volt minden szemben, amikor a refraktív korrekciót követő corneális vastagság (a lebeny vastagság levonását követően) legalább 250 μm vastagságú maradt. Amennyiben a szaruhártya vastagság vékonyabb volt, a lebeny vastagságát 160 μm -re csökkentettük. Az ablációs zóna 6,5 mm átmérőjű volt.

Az ablációs zónák mélységét összehasonlítva a két műtéti típus között nem találtunk szignifikáns különbséget (PRK esetében 48 ± 20 μm , LASIK esetében 59 ± 13 μm , $p=0,074$).

A kétféle műtéten átesett betegek életkora között sem találtunk szignifikáns különbséget (PRK esetében 26 ± 5 év, LASIK esetében 28 ± 9 év, $p=0,535$).

3.2.1. Pre-és posztoperatív kezelés, kontroll vizsgálatok, a corneális stromahomály értékelése lézerkezelésen átesett páciensek esetében

A lézeres műtétek előtt lokális érzéstelenítő cseppeket, Humacain (Oxybuprocaine hydrochloride, TEVA Gyógyszergyár) adtunk. A műtétet követően antibiotikus cseppeket, Ciloxan (Ciprofloxacin HCL 0,3%, Alcon) alkalmaztunk óránként a műtétet követő első napon, majd további öt napig 5x naponta. Öt nap múlva szteroid tartalmú Flucont (Fluorometholone 0,1%, Alcon) és Tears Naturale (Dextran/Hydroxypropyl Methylcellulose, Alcon) műkönnyet cseppentettünk. Ezt a kezelést az első hónapban naponta 5x, a második hónapban naponta 4x, a harmadik hónapban naponta 3x alkalmaztuk. Minden páciens kontroll vizsgálatát elvégeztük egy és három hónappal a lézeres beavatkozást követően.

Protokoll szerinti könnymintavételt végeztünk preoperatíven, közvetlenül posztoperatíven mindkét típusú lézerkezelést követően, valamint PRK esetében a 3. és 5., míg LASIK esetében a műtétet követő 1. napon a szokásos kontroll időpontoknak megfelelően.

A corneális stromahomály értékelése a tanulmányban Hanna féle stádium beosztás szerint történt [42].

3.2.2. Terhesek kontroll vizsgálata

A terhességi korokat az alábbiak szerint kategorizáltuk: 8-13. (átlag 10,7 hét), 16. (átlag 16,1 hét), 23-26. (átlag 24,2 hét) és 34-36. (átlag 34,9 hét) hét, valamint a szülést követő 1 hét (átlag 41 hét). A terhesek kontroll vizsgálata ennek a beosztásnak megfelelően történt.

3.3. Könnymintavétel lézerkezelt páciensek és terhesek esetében

A könnymintákat üvegapillárisokba gyűjtöttük közvetlenül a lézeres műtét előtt és azt követően, valamint a szokásos kontroll napokon ingerlés nélkül. A terhesek könnymintavételét a fenti kontrollokon, a lézerkezelésen átesett betegekével azonos módon végeztük. A mintavétel minden esetben szemcsepp használat előtt üvegapillárisal (hossza: 10 mm, átmérője: 1 mm) történt (megelőző csepp használatához képest minimum két óra elteltével), a szemhéjszél alsó marginális vonalának közelében lévő precorneális könnyfilmből, vigyázva arra, hogy ne sértsük, ne érintsük meg a kötőhártyát. A mintagyűjtés időtartamát és a könnyminta mennyiségét rögzítettük. A szekrécióna lézerkezelt betegek esetében 5-15 µl/perc, terhesek esetében 5-18 µl/perc volt. Az összes mintát centrifugáltuk (1800-as fordulatszám) közvetlenül a mintavétel után, és a felülúszót -80°C-on tároltuk felhasználásig. Felolvasztásukra közvetlenül a méréseket

megelőzően egyetlen alkalommal került sor. Kontroll mintáink esetében az operált szem mintavételeivel azonos időben és módon történt a könnyminták gyűjtése.

3.4. Vérvétel terhesektől

A vizsgálatunk során 27 terhestől (összesen 107 minta, 87 minta PAI-2 és 20 minta PAI-1 meghatározásra) 4 ml vért gyűjtöttünk az ulnaris vénából a fenti kontrolloknak megfelelő időpontban, valamint a szülést követő egy héten belül PAI meghatározásra. Ezenkívül 17 terhestől (51 minta) a kontrollokon progeszteron és ösztadiol szint meghatározásra is vettünk vért. A mintavételek és a meghatározások is a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján történtek. A gyűjtés antikoaguláns-tartalmú (0,5 ml 0,105 M Trisodium Citrate) csövekbe történt, melyet a vér levétele után jégre tettünk. Centrifugálást (1800 rpm, 10 min) követően a plazmát különválasztva azt -80°C-ra fagyasztottuk és csak a mérés alkalmával engedjük fel.

3.5. Plasminogén aktivátor inhibitor meghatározás

Enzim-kötött immunoassay segítségével (Imubind Elisa, American Diagnostica GmbH, Pfungstadt, Germany) meghatároztuk a könny és vér PAI-2 szintjét egyaránt a gyártó általi utasításnak megfelelően. Az Imubind ELISA a PAI-1 és PAI-2 mérésére egy enzim-kötött immunoassay, amely segítségével a humán PAI-1 és PAI-2 meghatározását végezhetjük el humán biológiai folyadékokban.

PAI-2 esetében a detektálhatóság alsó határa 1 ng/ml a lézerkezelt páciensek esetében. A szabad PAI-2 és a PAI-2/uPA komplex ugyanolyan szenzitivitással detektálható. Az Imubind PAI-2 ELISA poliklonális antitestet használ a humán PAI-2

antitest ellen. A mintákat előre bevont mikroteszt cellákban inkubáltuk és hozzáadva az antitesteket, a megkötött PAI-2 molekulákat detektáltuk. A hozzáadott streptavidin-kötött torma peroxidáz teljessé teszi az antitest-enzim komplexek kialakulását ebben az esetben is. A perborát/3,3',3,5'-tetrametilbenzidin szubsztrát hozzáadása és ezen szubsztrátnak a torma peroxidázzal kialakult végső reakciója egy kék oldatot eredményez. A szenzitivitást szulfursav oldattal megnövelhetjük, mely megállítja a folyamatot és a végső színreakció sárgára változik. A PAI-2 szintet quantitativ módon, 450 nm-en mérhetjük és összehasonlíthatjuk a kapott eredményeket egy standard görbe eredményeivel.

Lézerkezelésen átesett páciensek esetében a PAI-2 meghatározását 46 szem PRK kezelése során nyert 146 könny minta és 13 szem LASIK kezelése során nyert 35 könny minta esetében végeztük el. Továbbá 19 terhes 56 könny mintájából és 25 terhes 87 vérmintájából is meghatároztuk a PAI-2 szinteket (a detektálás alsó határa 100 pg/ml volt).

A PAI-1 meghatározását szintén enzim-kötött immunoassay (Imubind Elisa, American Diagnostica GmbH, Pfungstadt, Germany) segítségével végeztük a gyártó által kiadott utasításnak megfelelően. Az Imubind PAI-1 ELISA során egy murine anti-human PAI-1 antitestet használunk. A PAI-1 detektálása ezt követően a PAI-2 meghatározásnál leírtakkal azonos módon történt. A szabad és komplexben levő PAI egyaránt ugyanolyan szenzitivitással identifikálható. Az assay a PAI-2-re inszenzitív.

A PAI-1 szinteket PRK kezelésben részesült páciensek 61 könny mintájában és 13 terhes 45 könny mintájában, valamint 10 terhes 20 vérmintájában mértük. A szabad és a komplexben levő inhibitorokat az ELISA egyforma szenzitivitással ismerte fel. A méréseink során egyik könny minta PAI-1 értéke sem volt a detektálhatósági határ (1 ng/ml) felett, ezért a PAI-1 mérését LASIK-en átesett betegek könny mintáiban már nem végeztük el. A terhesek vér PAI-1 átlagértékei (SD) 85,8 (29,0), 90,5 (32,2) és 125,9 (26,1)

ng/ml voltak a 8-13., 16. és 23-26. héten levett mintákban. Azonban, mivel a könnyben a PAI-1 szintje a detektálhatósági határ (4 ng/ml) alatt maradt, ezért a könny-vér PAI-1 szint összehasonlítását nem tudtuk elvégezni.

A terhesek könnymintáinak vizsgálata során, összehasonlításképp, kor-azonos könny PAI-1 (64 könnymintában) és PAI-2 (37 könnymintában) szinteket használtunk negatív kontrollként, melyeket a corneális lézerkezelésen átesett, nem terhes nőkből származó könnyminták vizsgálata során kaptuk.

3.6. Ösztradiol és progeszteron meghatározása

A terhesek közül 17 nő 51 plazmájában határoztuk meg az ösztradiol és progeszteron szinteket. A meghatározást mindkét esetben „electro-chemiluminescence immunoassay” (ECLIA, Elecsys Estradiol CalSet II. és Elecsys Progesterone II. CalSet, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) segítségével határoztuk meg.

3.7. Statisztikai módszerek

Az excimer lézerkezelés utáni corneális sebgyógyulás során és a terhesség különböző szakaszaiban történő PAI változások elemzésére standard statisztikai analízist végeztünk. A PRK és LASIK PAI-2 eredményeinek összehasonlítását, valamint a terhesekben mért vér és könny PAI-2, ösztradiol és progeszteron szintjeinek összehasonlítását kétmintás t-próbával végeztük a különböző időszakban vett minták esetében.

A különbséget szignifikánsnak tekintettük, amikor $p < 0,05$ volt és kifejezett szignifikanciáról beszéltünk abban az esetben, amikor $p < 0,01$ érték volt.

4. EREDMÉNYEK

4.1. PAI mennyisége humán könnyben refraktív lézeres beavatkozást követően

A PAI-1 ELISA meghatározását 61 PRK-s könnymintán végeztük el, mely érintette mind a négy időpontban vett mintát. Egyik PAI-1 érték sem érte el a detektálhatóság alsó határát.

A PAI-2 ELISA meghatározását 146 PRK-s és 35 LASIK-es könnymintán végeztük el. A PAI-2 átlagértékeit az 1. táblázat tartalmazza a PRK során, négy alkalommal vett könnyminták esetében. A 2. táblázat pedig a LASIK során, három alkalommal vett könnyminták esetében mért PAI-2 átlagértékeit mutatja meg.

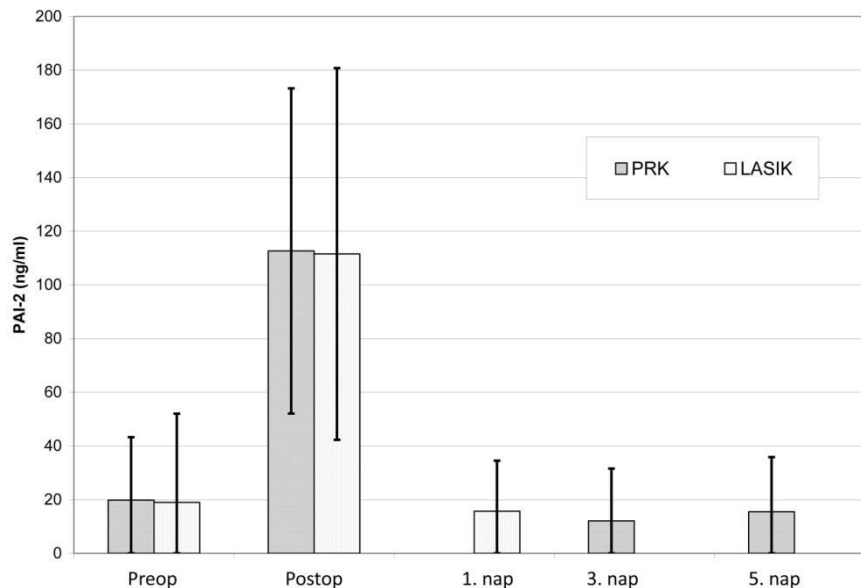
1. táblázat. A PAI-2 értékei PRK kezelésen átesett betegek könnymintáiban

	Átlagérték (ng/ml)	Sigma	Maximum	Minimum	Mintaszám
Preoperatív	19,8	23,4	113,5	<100 pg/ml	41
Posztoperatív	112,7	60,5	238,2	8,2	42
Posztop. 3.nap	12,1	19,5	79,9	<100 pg/ml	44
Posztop. 5.nap	15,5	20,4	78,8	<100 pg/ml	19

2. táblázat. A PAI-2 értékei LASIK kezelésen átesett betegek könnymintáiban

	Átlagérték (ng/ml)	Sigma	Maximum	Minimum	Mintaszám
Preoperatív	19,0	33,1	102,1	<100 pg/ml	12
Posztoperatív	111,5	69,2	237,6	27,7	12
Posztop. 1.nap	15,7	18,8	59,6	<100 pg/ml	11

Az átlagos PAI-2 értékeket PRK és LASIK esetében a 10. ábrán tüntettük fel.



10. ábra. A PAI-2 átlagértékek PRK és LASIK esetében.

A PRK és LASIK PAI-2 eredményeit egymással kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze a preoperatív és a közvetlen posztoperatív minták esetében. Egyik esetben nem találtunk szignifikáns különbséget ($p > 0,9$, kétmintás t-próba). Mind a PRK mind a LASIK esetén a posztoperatív PAI-2 szint szignifikánsan magasabb volt minden más időpontban vett minta PAI-2 szintjéhez képest ($p < 0,001$ minden esetben, kétmintás t-próba). Minden lehetséges kombinációt elvégeztünk a preoperatív, az 1., 3. és 5. posztoperatív napon vett

könnyminták eredményei között, de szignifikáns eltérést egyik esetben sem találtunk ($p > 0,1$).

40 PRK-n átesett beteg esetén találtunk tiszta corneát a műtétet követő 3 hónapos kontroll időszakban. Egy PRK-s betegnél detektáltunk haze-t (grade 2) a 3. posztoperatív hónapra. Sajnálatos módon a betegnek csak egy szeme volt bevonható a vizsgálatunkba. További öt, PRK beavatkozáson átesett szemén detektáltunk enyhe corneális opacifikációt. Ezen paciensek közül egynek emelkedett preoperatív PAI-2 szintet tudtunk kimutatni (> 2 SD), egy másik páciensnek emelkedett volt a lézerkezelést közvetlenül követő PAI-2 szintje (> 2 SD). A 3. és 5. posztoperatív napon corneális opacifikáció esetén, a PRK-s beteg mintáiban olyan PAI-2 értékeket mértünk, amelyek a PAI-2 átlagértékének 1 SD értékén belül voltak ezeken a napokon. Tiszta cornea esetében egyik paciensnek sem volt emelkedett preoperatív PAI-2 szintje. Jóllehet, 3 szemén a PAI-2 érték a 3. napon a 2 SD érték felett volt és egy másik esetben a PAI-2 értéke az 5. napon meghaladta a 2 SD értéket. Ez a 2 SD szint feletti PAI-2 érték eloszlás a 146 mérés között várható és így nem lehet szignifikanciáról beszélni abban a két esetben ahol corneális opacifikációt figyeltünk meg, amikor a PAI-2 érték magas volt. Így nem tudtunk igazolni szignifikáns összefüggést a preoperatív emelkedett PAI-2 szint és a corneális homály kialakulása között.

Minden LASIK kezelésen átesett betegnél tiszta corneát találtunk a követési idő alatt. Jóllehet, egy szem mintáiban a preoperatív PAI-2 átlag a 2SD felett volt. Egy másik, LASIK-en átesett szem könnymintáiban az első posztoperatív napon a PAI-2 szint a saját átlag 2SD érték felett volt. Ez az eredmény szintén várható volt és ez nem jelentett statisztikailag szignifikáns eltéréseket a LASIK-kel kezelt csoportban sem.

4.2. A PAI-1 és PAI-2, az ösztadiol és progeszteron mért értékek szintjének változása terhes nők könny-és vérmintáiban

Az egészséges terhesek vizsgálata során corneális sebzés vagy szaruhártya sérülés nem történt a vizsgálati idő alatt. A terhesség alatt a vérmintákban az ösztadiol, a progeszteron és a PAI-2 értéke erősen korrelált a terhességi korrallal, az irodalmi adatoknak megfelelően szintjük fokozatosan emelkedett a terhesség végéig. Ezzel ellentétben, a könny PAI-2 szintje a terhességi korrallal nem korrelált. A PAI-2 értékeket a terhesek könny és vérmintáiban a 3. és 4. táblázatban láthatjuk. Az ösztadiol és progeszteron változását a vérben a 11. és 12. ábrán ábrázoltuk. A terhesek esetében a PAI-1 szinteket 8-13. hét között 11, a 16. héten 10, a 23-26. hét között 11, a 34-36. héten 6 és a szülést követő 1 héten belül 6 könnymintában mértük, mely szintek minden esetben a detektálhatósági határ alatt maradtak.

A könny PAI-2 értékeit összehasonlítottuk a nem terhesek könnymintáiban kapott eredményekkel. Az átlagértékek nem különböztek szignifikánsan a terhesség különböző időpontjaiban, kivéve a nem terhesek eredményeit összehasonlítva a 16 hetes terhesekével, amikor a $p=0,022$ volt.

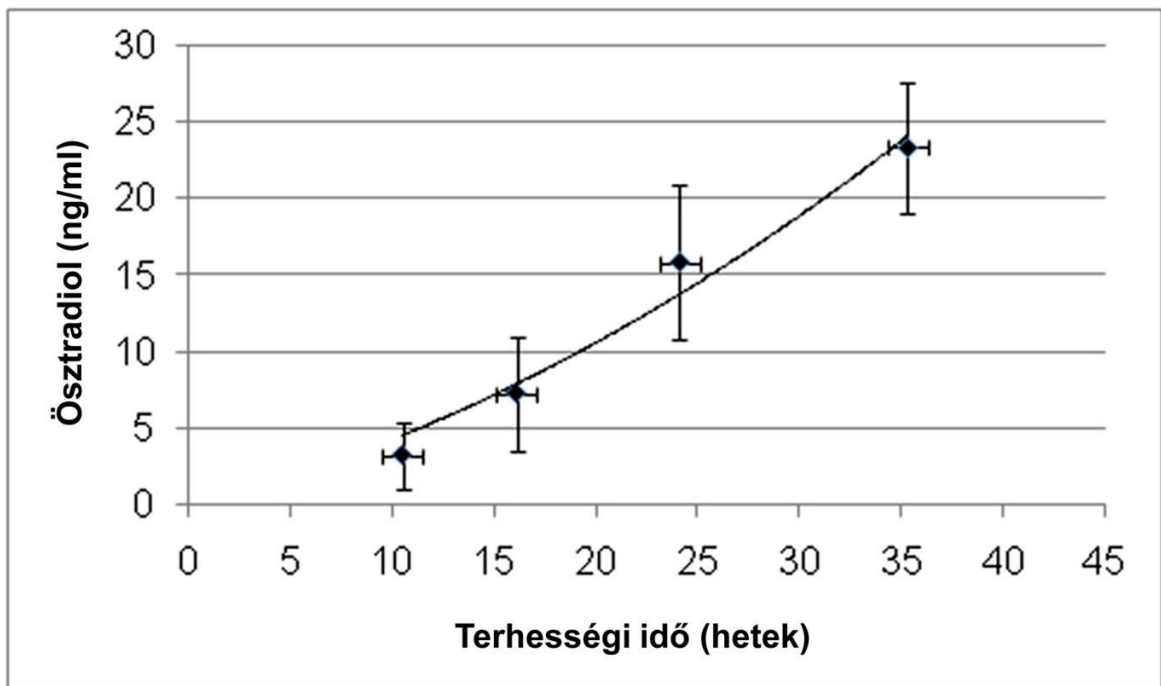
A vér PAI-2 vonatkozásaiban, a 8-13. hét közötti és a 16. terhességi heti értékeket a szülés utáni 1 héten belül mért értékekhez viszonyítva nem találunk szignifikáns különbségeket. Jóllehet, meredek emelkedést találunk a vér PAI-2 szintekben a 23-26. és a 34-36. hetes terhességi korok átlagértékeit vizsgálva. A terhesség alatt a vér PAI-2 értékei tehát szignifikáns összefüggést mutattak a terhességi korrallal. Ezek az eredmények megfeleltek az irodalomban korábban közöltekkel [50,51,105]. A fentiekkel ellentétben, a könny PAI-2 szintjei nem korreláltak a terhességi korrallal, a könnymintákban mért értékek alapvetően konstansak maradtak a terhesség folyamán. A könny és vérmintákban a PAI-2 időbeli változását a terhesség folyamán a 13. ábrán tüntettük fel.

3. táblázat. PAI-2 értékek terhes nők könnymintáiban.

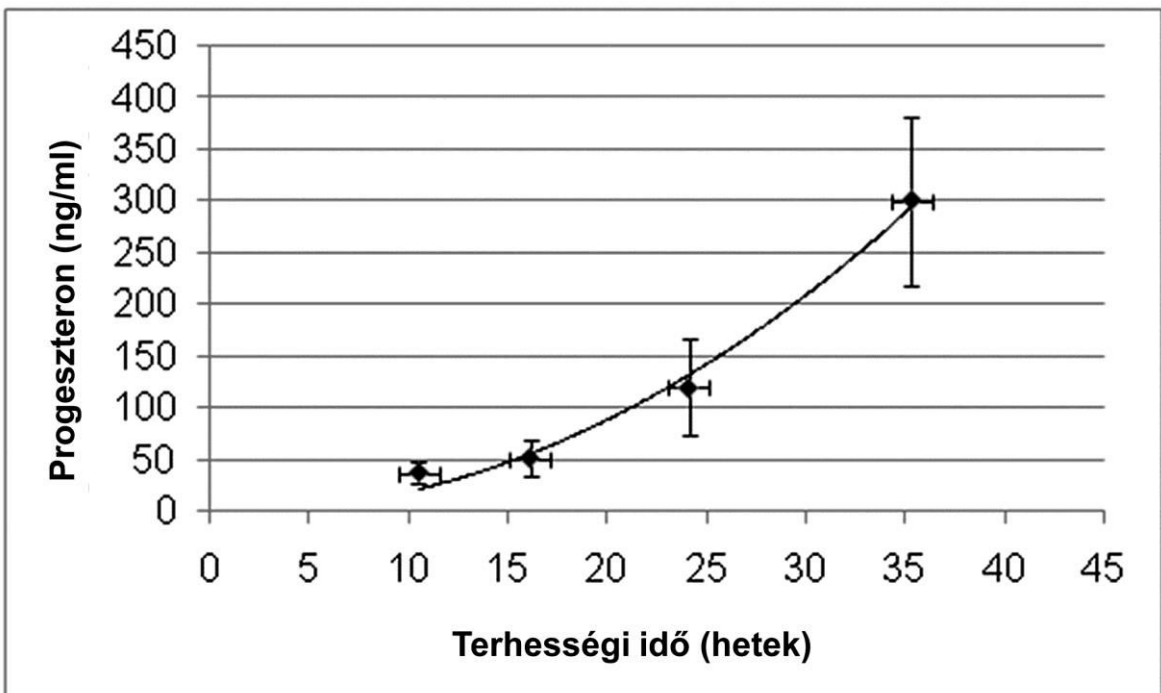
Terhességi idő (hetek)	Átlag	SD	Maximum	Minimum	Mérések száma
8-13. hét	54.3	61.6	213.6	1.9	20
16. hét	47.3	39.0	138.0	2.3	25
23-26. hét	42.2	43.8	184.6	3.1	25
34-36. hét	29.7	31.1	91.4	0.2	12
szülés után	41.4	32.8	87.4	9.8	4

4. táblázat. PAI-2 értékek terhesek vérmintáiban.

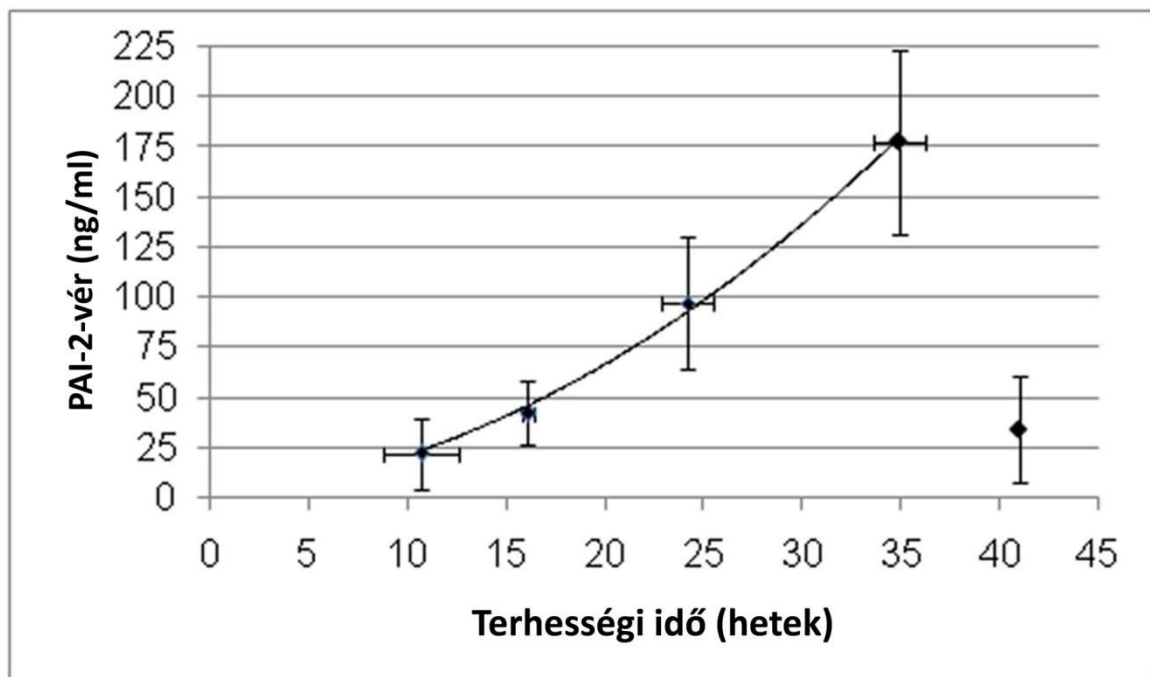
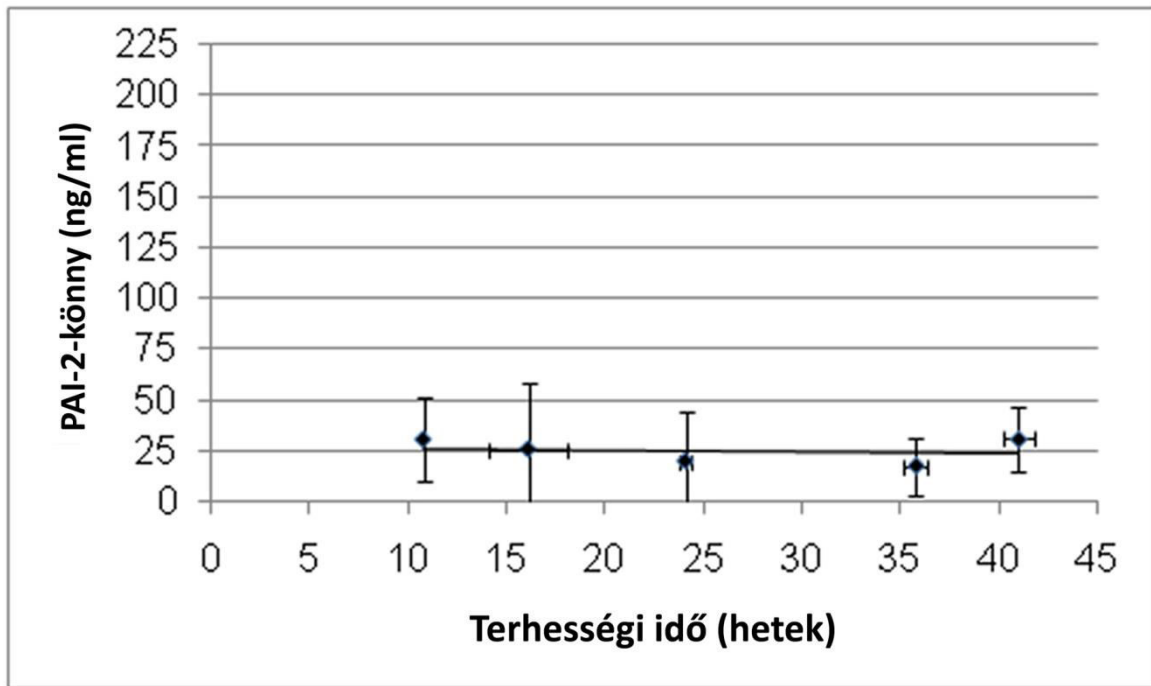
Terhességi idő (hetek)	Átlag (ng/ml)	SD	Maximum	Minimum	Mérések száma
8-13. hét	42.4	31.5	131.4	0.5	26
16. hét	72.7	39.0	145.4	8.5	20
23-26. hét	135.6	46.4	212.2	42.6	23
34-36. hét	186.2	30.2	228.7	115.5	16
szülés után	36.2	38.3	110.8	1.4	8



11. ábra. Az ösztradiol szint változása a vérben a terhességi idő függvényében.



12. ábra. A progesteron szint változása a vérben a terhességi idő függvényében.



13. ábra. A PAI-2 átlagértékei a könnyben és a vérben a terhességi idő függvényében.

5. MEGBESZÉLÉS

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a plazminogén aktivátor/inhibitor rendszer számos fiziológiás és patológiás folyamatban igen fontos szerepet játszik.

Korábbi vizsgálatokból kitűnik, hogy a szemfelszíni, corneális sebzést követően (pl. PRK esetében) a PAA lecsökken, akár a nem megfelelő termelés vagy a PAI-2 szintjének jelentős emelkedése miatt, a cornea homállyal gyógyul, haza kialakulása figyelhető meg.

A tanulmányunk eredményei azt mutatták, hogy a könnyben hiányzik a mérhető mennyiségű PAI-1 antigén a PRK beavatkozás előtt és után is, de a PAI-2 mérhető koncentrációban van jelen a PRK és LASIK kezelés előtt és azokat követően is. LASIK során a PAI-2 szint lecsökkent a preoperatív mért szintre már az első posztoperatív napra. Nem volt információnk a PRK kezelést követő első napról, de a harmadik napon, mikor a könnymintákat vettük, a PAI-2 szintet a preoperatív mért szinten találtuk. Úgy találtuk, hogy az időbeli mintázat PRK és LASIK esetében is alapvetően megegyezik. Az általános hasonlóság a PAI-2 időbeli mintázatában PRK és LASIK kezelés esetén azt sugallja, hogy a corneális sebgyógyulásban közös enzimatikus kontroll válasz van még akkor is, ha úgy gondolnánk, hogy a sebgyógyulás különbözik a két eljárást követően.

A PAI-2 mintázatát kiegészíti az uPA aktivitás mintázata, melyet megelőző tanulmányok során igazoltak: általában normál esetekben a PAI-2 alacsony amikor az uPA aktivitás magas és ugyanez igaz fordítva is [40,41]. Igazolták, hogy amikor az uPA aktivitás alacsony a műtétet követő három napon keresztül az kísérő jele volt azon PRK-s eseteknek, melyekben haza alakult ki. A PRK-t követő alacsony uPA aktivitás és a később kialakult haza közötti kapcsolat vagy az uPA csökkent expressziója vagy a magasabb PAI koncentráció miatt alakulhatott ki. A jelenlegi tanulmányunkban emelkedett PAI-2

koncentrációt figyelhettünk meg a PRK utáni 3. és 5. napon, LASIK után az 1. napon néhány esetben, amely esetek egyikében sem alakult ki haze. A PRK-t követő 3. hónapban egy szemben alakult ki haze, további öt esetben enyhe corneális opacifikáció volt látható. A homállal gyógyult esetek között egy szemben mértünk preoperatíven, egy másik szemben pedig közvetlenül posztoperatíven emelkedett PAI-2 szinteket. Következtetésképpen, eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a csökkent uPA expresszió, a nem emelkedett PAI-2, oka lehet a későbbiekben kialakult opacifikációnak és haze-nek.

Ezek a megfigyelések valamint az a tény, hogy terhes nyulak fotorefraktív lézerkezelését követően corneális haze alakult ki, indított el minket, hogy a humán terhesekben a terhességi kor előrehaladtával megfigyeljük a PAI-2 szint változását a vérben és a könnyben egyaránt. A plazminogén aktivátor inhibitorok könnybeli szintjének változását terhesség alatt ezt megelőzően még nem vizsgálták. Ahogyan azt nem terhes nőkben láthattuk korábban, a könny PAI-1 szintje nem érte el a kimutathatósági küszöböt. Ez a helyzet végig fennállt a terhesség alatt, valamint a terhességet követő egy héten belül is. Ezért úgy gondoljuk, hogy a könny PAI-1 szint változását a terhesség szignifikánsan nem befolyásolta.

Kimutatható volt, hogy a terhes nők könny PAI-2 szintje nem magasabb, mint a nem terhes nők könnyében található PAI-2 szintek.

A vér ösztadiol, progeszteron és PAI-2 szintjének folyamatos emelkedését láthattuk a terhesség folyamán, míg a könnyben mért PAI-2 szintek nem korreláltak a terhességi korról, azok szintjében szignifikáns változást nem találtunk. Így megállapíthatjuk, hogy a szisztémás, vérben mért PAI-2 szint emelkedése nem vezetett a könny PAI-2 szintjének emelkedéséhez.

Feltételezzük azonban, hogy a szemfelszínt ért sérüléseket követően az erek permeabilitásának fokozódásával az emelkedett mennyiségű vér PAI-2 átjuthat az erek falán, így növelve a könny PAI-2 szintjét [109]. Feltételezésünk szerint a könnyben a PAI-2 komplexben található és szintjének változásához, a komplexből történő felszabadulásához valamilyen trigger szükséges, mint pl. a corneális sebzés. A könnyben található komplexekből való felszabadulásával és a szemfelszíni sérült epitél sejtekből kikerülve a PAI-2 szintjének további emelkedése jöhet létre, normál PAA mellett is, tökéletlen sebgyógyulást idézhet elő [94,109]. Továbbá, különféle patológiás állapotokban, mint a corneális sérülés vagy műtétek utáni állapotok, a conjunctivális erek permeabilitásának megnövekedésének következtében a proteázok és proteáz inhibitorok proenzim formái kerülhetnek a könnybe transzudáció útján [109]. A PAI-k ilyen típusú abnormális növekedése a terhesek corneális sebgyógyulási zavarát vagy corneális fekélyképződését okozhatja.

A terhesek könnymintáinak PAI szintjeit meghatározva elmondhatjuk, hogy a PAI értékek nem emelkednek a normál terhesség alatt sebzés vagy sebészi beavatkozás hiányában. Szemfelszíni betegségek, sebzés vagy sebészeti beavatkozás hiányában a könnyszintek függetlenek az enzimek vérszintjének változásától. Ez azt sugallja, hogy a proteolízis a könnyben és a szemfelszínen lokális kontroll alatt állhat. Az előzőek alapján elmondható, hogy a szervezet – a könnyet is beleértve – proteolitikus aktivitása érzékeny szabályozás alatt áll, melyben bekövetkező zavar súlyos szövődményekkel járhat.

Ezen bonyolult enzimátikus rendszer további kutatása szükséges ahhoz, hogy a terhesség alatt esetlegesen szükségessé váló szemészeti beavatkozásokat minél nagyobb biztonsággal végezhessük a jövőben.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Megvizsgáltuk a plazminogén aktivátor inhibitor szint jellegzetes változását a könnyben fotorefraktív lézerkezelést követően. PRK kezeléseket követően egy szem esetében haze volt detektálható a kezelést követő harmadik hónapra, és további öt szemben enyhe corneális opacifikáció. Ezek közül a páciensek közül egy esetben mértünk emelkedett PAI-2 szintet preoperatíven, egy másik esetben pedig magasabb PAI-2 szintet találtunk a közvetlen posztoperatív mintában. A 3. és 5. posztoperatív napokon azon PRK kezelésem átesett pácienseink könnymintáiban, akiknél corneális opacifikáció volt megfigyelhető, a PAI-2 átlagértékek saját 1 SD értékein belül adódtak. Azoknál a PRK-s pácienseinknél, akiknél tiszta corneát találtunk, nem volt a preoperatív PAI-2 átlagérték emelkedett, jóllehet 3 szemben a PAI-2 érték a 3. napon és egy másik esetben a PAI-2 értéke az 5. napon meghaladta a 2 SD értéket. A kapott eredmények tükrében nem lehet szignifikanciáról beszélni abban a két esetben ahol corneális opacifikációt figyeltünk meg, amikor a PAI-2 érték magas volt. Így nem tudtunk igazolni szignifikáns összefüggést a preoperatíven emelkedett PAI-2 szint és a corneális homály kialakulása között.

2. A PRK és LASIK PAI-2 eredményeit egymással kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze a preoperatív és a közvetlen posztoperatív minták esetében. Nem találtunk szignifikáns különbséget a PRK és LASIK eredmények között. Mind a PRK mind a LASIK lézerkezelések során minden esetben a közvetlen posztoperatív eredmények és a többi időpontban vett minták eredményei között kifejezett szignifikáns különbséget találtunk. Minden lehetséges kombinációt elvégeztünk a preoperatív, az 1., 3. és 5. posztoperatív napon vett könnyminták eredményei között, de szignifikáns eltérést egyik esetben sem találtunk egyik lézerkezelés típus esetében sem.

3. A terhes nők könnymintáinak PAI-2 szintje a terhességi korról nem korrelált, a könnymintákban mért értékek alapvetően konstansak maradtak a terhesség folyamán. A könny PAI-2 értékeit összehasonlítottuk a nem terhesek könnymintáiban kapott eredményekkel. Az átlagértékek nem különböztek szignifikánsan a terhesség különböző időpontjaiban, kivéve a nem terhesek eredményeit összehasonlítva a 16 hetes terhesekével, amikor a $p=0,022$ volt. A könnymintákban a PAI-1 szintje a detektálhatósági határ alatt maradt.

4. A különböző terhességi korokban a vér PAI-2 szintjeit összehasonlítva az alábbiakat figyelhettük meg: a 8-13. hét és a 16. terhességi hét értékei a szülés utáni 1 hét értékeihez viszonyítva szignifikáns különbséget nem mutatott. Ezzel szemben jelentős különbség volt megfigyelhető 23-26. hét és a 34-36. hetes terhességi korok átlagértékei között. A vér PAI-2 szintje a terhességi korról előrehaladva fokozatosan emelkedett.

7. SUMMARY OF NEW RESULTS

1. We examined the characteristic changes in the plasminogen activator inhibitor levels in tear film after photorefractive keratectomy. One PRK-treated eye developed haze by the third month, and five other eyes had mild corneal opacification. One of the eyes had an elevated PAI-2 level preoperatively and another had an elevated PAI-2 level at the immediately postoperative measurement. On the third and fifth postoperative days, all eyes in the PRK group with corneal opacification had a PAI-2 value within the respective 1 SD of the mean of the PAI-2 values in those days. No eye in the PRK group with a clear cornea had a PAI-2 value beyond the respective 2 SDs of the mean preoperatively or immediately postoperatively.

There was no significant difference between preoperative elevated PAI-2 values and corneal haze developing.

2. There was no significant difference between preoperative and postoperative values in either group (sample t-test). In both groups (PRK and LASIK), the difference between the immediate postoperative PAI-2 results and the results at each other postoperative measurement days was statistically significant. There was no statistically significant differences when all possible combinations of preoperative, day 1, day 3, and day 5 results were analyzed.

3. Our measurements on tears of pregnant women indicate that tear PAI is not elevated during pregnancy. The PAI-2 levels in tears were not correlated with gestational age. We examined the measured mean values of PAI-2 in tears of pregnant women along

with non-pregnant women. The mean values are not significantly different for the different time periods of measurement except for the non-pregnant compared to the 16th week, for which $p=0,022$.

No PAI-1 value was above the lower detection limit.

4. The mean values at the 8th to 13th week and 16th week are not significantly different from the post-pregnancy mean value. However, there is a steep rise in the mean value of the PAI-2 seen at both the 23th to 26th week and the 34th to 36th week. PAI-2 levels in blood showed a continuous increase through the duration of pregnancy.

Kulcsszavak

plazminogén activator; plazminogén aktivátor inhibitor; excimer lézer; terhesség; corneális sebgyógyulás

Keywords

plasminogen activator; plasminogen activator inhibitor; excimer laser; pregnancy; corneal wound healing

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Csutak Adrienne egyetemi adjunktusnak, hogy munkámat folyamatosan figyelemmel kísérte, messzemenően támogatta és mindenben segítséget nyújtott. Köszönöm, Prof. Dr. Berta András egyetemi tanárnak, főnökömnek és kollégáimnak, hogy a munkámban támogattak. Szeretném kifejezni hálámat Hassan Ziad doktornak, amiért lehetőséget biztosított a könnyminták gyűjtésére operált betegeinél. Köszönet illeti Dr. Bazsáné Dr. Kassai Zsuzsát a terhes nők vérmintáinak feldolgozásában és elemzésében nyújtott pótolhatatlan segítségéért. Utoljára, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak, hogy munkám során mindvégig mellettem állt és biztosította számomra azt a háttérrel, amely nélkül ez a munka nem születhetett volna meg.

Támogatás

A munka sikeres megvalósításához az alábbi pályázat jelentős mértékben hozzájárult: Vaszkuláris és kardiális kutatóhálózat: Az ér- és a kardiovaszkuláris betegségek pathomechanizmusa, diagnosztikai, farmakológiai befolyásolhatóságuk az alapkutatás szintjén”. TAMOP- 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Sakimoto T, Rosenblatt MI, Azar DT: Laser eye surgery for refractive errors. *Lancet*. 2006 Apr 29;367(9520):1432-47.
2. Fagerholm P, Molander M, Podskochy A, Sundelin S: Epithelial ingrowth after LASIK treatment with scraping and phototherapeutic keratectomy. *Acta Ophthalmol Scand*. 2004 Dec;82(6):707-13.
3. Bamba S, Rocha KM, Ramos-Esteban JC, Krueger RR: Incidence of rainbow glare after laser in situ keratomileusis flap creation with a 60 kHz femtosecond laser. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Jun;35(6):1082-6. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.01.026.
4. de Paula FH, Khairallah CG, Niziol LM, Musch DC, Shtein RM: Diffuse lamellar keratitis after laser in situ keratomileusis with femtosecond laser flap creation. *J Cataract Refract Surg*. 2012 Jun;38(6):1014-9. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.12.030. Epub 2012 Apr 8.
5. Marshall J, Trokel S, Rothery S, Krueger RR: A comparative study of corneal incisions induced by diamond and steel knives and two ultraviolet radiations from an excimer laser. *Br J Ophthalmol*. 1986 Jul;70(7):482-501.
6. <http://www.mainefamilyeyecare.com/Content/laservisioncorrection/prk/prkbasic.aspx>
7. Lohmann CP, Gartry DS, Muir MK, Timberlake GT, Fitzke FW, Marshall J: Corneal haze after excimer laser refractive surgery: objective measurements and functional implications. *Eur J Ophthalmol*. 1991 Oct-Dec;1(4):173-180.
8. Lohmann CP, Marshall J: Plasmin- and plasminogen-activator inhibitors after excimer laser photorefractive keratectomy: new concept in prevention of postoperative myopic regression and haze. *Refract Corneal Surg*. 1993 Jul-Aug;9(4):300-2.
9. Lohmann CP, Patmore A, O'Brart D, Reischl U, Winkler Mohrenfels C, Marshall J: Regression and wound healing after excimer laser PRK: a histopathological study on human corneas. *Eur J Ophthalmol*. 1997 Apr-Jun(2):130-138.
10. Kuo IC, Lee SM, Hwang DG: Late-onset corneal haze and myopic regression after photorefractive keratectomy (PRK). *Cornea*. 2004 May;23(4):350-355.

11. Tabbara KF, El-Sheikh HF, Sharara NA, Aabed B: Corneal haze among blue eyes and brown eyes after photorefractive keratectomy. *Ophthalmology*. 1999 Nov;106(11):2210-2215.
12. Chen L, Ye T, Yang X: Evaluation of the long-term effects of photorefractive keratectomy correction for myopia in China. *Eur J Ophthalmol*. 2011 Jul-Aug;21(4):355-362. doi: 10.5301/EJO.2011.6226.
13. Moller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM, Jester JV: Corneal haze development after PRK is regulated by volume of stromal tissue removal. *Cornea*. 1998 Nov;17(6):627-639.
14. Hefetz LH, Domnitz Y, Haviv D, Krakowsky D, Kibarsky Y, Abrahamsi S, Nemet P: Influence of patient age on refraction and corneal haze after photorefractive keratectomy. *Br J Ophthalmol*. 1997 Aug;81(8):637-638.
15. Goggin M, Kenna P, Lavery F: Haze following photorefractive and photoastigmatic refractive keratectomy with the Nidec EC5000 and the Summit ExciMed UV200. *J Cataract Refract Surg*. 1997 Jan-Feb;23(1):50-53.
16. Kuo IC, Lee SM, Hwang DG: Late-onset corneal haze and myopic regression after photorefractive keratectomy (PRK). *Cornea*. 2004 May; 23(4):350-355.
17. Fagerholm P, Hamberg-Nyström H, Tengroth B: Wound healing and myopic regression following photorefractive keratectomy. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1994 Apr;72(2):229-234.
18. Lohmann CP, Reischl U, Marshall J: Regression and epithelial hyperplasia after myopic photorefractive keratectomy in a human cornea. *J Cataract Refract Surg*. 1999 May;25(5):712-715.
19. Pallikaris IG, Siganos DS. Excimer laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy for correction of high myopia. *J Refract Corneal Surg*. 1994 Sep-Oct;10(5):498-510.
20. Pallikaris IG, Karoutis AD, Lydataki SE, Siganos DS: Rotating brush for fast removal of corneal epithelium. *J Refract Corneal Surg*. 1994 Jul-Aug;10(4):439-442.
21. <http://www.westwoodoptometriccenter.com/lasik-surgery.html>

22. Kanellopoulos AJ, Asimellis G: Refractive and keratometric stability in high myopic LASIK with high-frequency femtosecond and excimer lasers. *J Refract Surg.* 2013 Dec;29(12):832-7. doi: 10.3928/1081597X-20130924-02. Epub 2013 Oct 4.
23. Miyamoto T, Saika S, Yamanaka A, Kawashima Y, Suzuki Y, Ohnishi Y: Wound healing in rabbit corneas after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2003 Jan;29(1):153-8.
24. Murakami Y, Manche EE: Prospective, randomized comparison of self-reported postoperative dry eye and visual fluctuation in LASIK and photorefractive keratectomy. *Ophthalmology.* 2012 Nov;119(11):2220-4. doi: 10.1016/j.optha.2012.06.013. Epub 2012 Aug 11.
25. Kamburoğlu G, Ertan A: Epithelial ingrowth after femtosecond laser-assisted in situ keratomileusis. *Cornea.* 2008 Dec;27(10):1122-5. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181731439.
26. de Paula FH, Khairallah CG, Niziol LM, Musch DC, Shtein RM: Diffuse lamellar keratitis after laser in situ keratomileusis with femtosecond laser flap creation. *J Cataract Refract Surg.* 2012 Jun;38(6):1014-1019. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.12.030. Epub 2012 Apr 8.
27. Villa C, Gutiérrez R, Jiménez JR, González-Méijome JM: Night vision disturbances after successful LASIK surgery. *Br J Ophthalmol.* 2007 Aug;91(8):1031-7. Epub 2007 Feb 21.
28. Schallhorn SC, Kaupp SE, Tanzer DJ, Tidwell J, Laurent J, Bourque LB: Pupil size and quality after LASIK. *Ophthalmology.* 2003 Aug;110(8):1606-1614.
29. Pop M, Payette Y: Photorefractive keratectomy versus laser in situ keratomileusis: a control – matched study. *Ophthalmology.* 2000 Feb;107(2):215-217.
30. <http://acuitylaservision.com/custom/>
<http://acuitylaservision.com/wp-content/uploads/2015/04/Lasik-Acuity-noCustom.jpg>

31. Battat L, Macri A, Dursun D, Pflugfelder SC: Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance, and the ocular surface. *Ophthalmology*. 2001 Jul;108(7):1230-5.
32. <http://www.deerpenickeyeclinic.com/lasik.htm>
<http://www.deerpenickeyeclinic.com/images/LASEK.jpg>
33. Zhao LQ, Zhu H, Li LM: Laser-Assisted Subepithelial Keratectomy versus Laser In Situ Keratomileusis in Myopia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *ISRN Ophthalmol*. 2014 Jun 12;2014:672146. doi: 10.1155/2014/672146. eCollection 2014.
34. Yee RW, Yee SB: Update on laser subepithelial keratectomy (LASEK). *Curr Opin Ophthalmol*. 2004 Aug;15(4):333-41
35. Taneri S, Zieske JD, Azar DT: Evolution, techniques, clinical outcomes, and pathophysiology of LASEK: review of the literature. *Surv Ophthalmol*. 2004 Nov-Dec;49(6):576-602.
36. Oh JY, Yu JM, Ko JH: Analysis of ethanol effects on corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Jun 4;54(6):3852-6. doi: 10.1167/iovs.13-11717.
37. Pallikaris IG, Katsanevaki VJ, Kalyvianaki MI, Naoumidi II: Advances in subepithelial excimer refractive surgery techniques: Epi-LASIK. *Curr Opin Ophthalmol*. 2003 Aug;14(4):207-12. Review.
38. Pallikaris IG, Naoumidi II, Kalyvianaki MI, Katsanevaki VJ: Epi-LASIK: comparative histological evaluation of mechanical and alcohol-assisted epithelial separation. *J Cataract Refract Surg*. 2003 Aug;29(8):1496-501.
39. Berman M, Manseau E, Law M, Aiken D: Ulceration is correlated with degradation of fibrin and fibronectin at the corneal surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983 Oct;24(10):1358-66.
40. Tervo T, Tervo K, van Setten GB, Virtanen I, Tarkkanen A: Plasminogen activator and its inhibitor in the experimental corneal wound. *Exp Eye Res*. 1989 Mar;48(3):445-9.
41. Tuft S, Eggli P, Boulton M, Marshall J: Assessment of corneal wound repair in vitro. *Curr Eye Res*. 1989 Jul;8(7):713-9.

42. Hanna KD, Pouliquen YM, Savoldelli M, Fantès F, Thompson KP, Waring GO 3rd, Samson J: Corneal wound healing in monkeys 18 months after excimer laser photorefractive keratectomy. *Refract Corneal Surg.* 1990 Sep-Oct;6(5):340-5.
43. Marshall J, Trokel SL, Rothery S, et al.: Long-term healing of the central cornea after photorefractive keratectomy using an excimer laser. *Ophthalmology.* 1988 Oct;95(10):1411-21.
44. Berman M, Leary R, Gage J: Evidence for a role of the plasminogen activator-plasmin system in corneal ulceration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1980 Oct;19(10):1204-21.
45. Tözsér J, Berta A, Punyiczki M: Plasminogen activator activity and plasminogen independent amidolytic activity in tear fluid from healthy persons and patients with anterior segment inflammation. *Clin Chim Acta.* 1989 Aug 31;183(3):323-31.
46. Csutak A, Tözsér J, Békési L, et al.: Plasminogen activator activity in tears after excimer laser photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000 Nov;41(12):3743-7.
47. Csutak A, Silver DM, Tozsér J, et al.: Plasminogen activator activity and inhibition in rabbit tears after photorefractive keratectomy. *Exp Eye Res.* 2003 Dec;77(6):675-80.
48. Csutak A, Silver DM, Tozsér J, et al.: Plasminogen activator inhibitor in human tears after laser refractive surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2008 Jun;34(6):897-901. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.02.024.
49. Csutak A, Silver DM, Tözsér J, et al.: Urokinase-type plasminogen activator to prevent haze after photorefractive keratectomy, and pregnancy as a risk factor for haze in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 May;45(5):1329-33.
50. Mayer M: Biochemical and biological aspects of the plasminogen activation system. *Clin Biochem.* 1990 Jun;23(3):197-211.
51. Estellés A, Gilabert J, Aznar J, et al.: Changes in the plasma levels of type 1 and type 2 plasminogen activator inhibitors in normal pregnancy and in patients with severe preeclampsia. *Blood.* 1989 Sep;74(4):1332-8.

52. Chen H, Zhou L, Meng L, et al.: Coagulation and prothrombotic state parameters: a clinical analysis during early pregnancy. 2011 Dec;180(4):813-7. doi: 10.1007/s11845-011-0737-x. Epub 2011 Aug 2.
53. Lobov S, Croucher DR, Saunders DN, et al.: Plasminogen activator inhibitor type 2 inhibits cell surface associated tissue plasminogen activator in vitro: potential receptor interactions. *Thromb Haemost.* 2008 Aug;100(2):319-29
54. Kruithof EK, Tran-Thang C, Gudinchet A, et al.: Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors. *Blood.* 1987 Feb;69(2):460-466.
55. Rubin ML: Spectacles: past, present, and future. *Surv Ophthalmol.* 1986 Mar-Apr;30(5):321-7.
56. Nagy Zoltán Zsolt: A szaruhártya excimer lézeres kezelése. ISBN: 963 440 198 8. Budapest, 2001; 11-13.
57. Schawlow A L, Townes C H: Infrared and optical masers. *Phys. Rev.* 1958 Dec;112:1940–1949. doi:http://dx.doi.org/10.1103/PhysRev.112.1940.
58. Maiman T H: Stimulated optical radiation in ruby. *Nature.* 1960 Aug; 187:493–494. doi:10.1038/187493a0
59. L'Esperance FA Jnr: An ophthalmic argon laser photocoagulation system: design, construction and laboratory investigations. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1968;66: 827-904.
60. Garrison BJ, Winograd N: Ion beam spectroscopy of solids and surfaces. *Science.* 1982 May 21;216(4548):805-12.
61. Trokel SL, Srinivasan R, Braren B: Excimer laser surgery of the cornea. *Am J Ophthalmol.* 1983 Dec;96(6):710-5.
62. Garrison BJ, Winograd N: Ion beam spectroscopy of solids and surfaces. *Science.* 1982 May 21;216(4548):805-12.
63. Srinivasan R, Dyer PE, Braren B: Far-ultraviolet laser ablation of the cornea: photoacoustic studies. *Lasers Surg Med.* 1987;6(6):514-9.
64. Munnerlyn CR¹, Koons SJ, Marshall J: Photorefractive keratectomy: a technique for laser refractive surgery. *J Cataract Refract Surg.* 1988 Jan;14(1):46-52.

65. Chew SJ, Beuerman RW, Kaufman HE, McDonald MB: In vivo confocal microscopy of corneal wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. *CLAO J.* 1995 Oct;21(4):273-80.
66. Barlati S, Marchina E, Quaranta CA, Vigasio F, Semeraro F: Analysis of fibronectin, plasminogen activators and plasminogen in tear fluid as markers of corneal damage and repair. *Exp Eye Res.* 1990 Jul;51(1):1-9.
67. Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Keough M: Reassembly of the anchoring structures of the corneal epithelium during wound repair in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989 Mar;30(3):425-34.
68. Binder PS, Anderson JA, Rock ME, Vrabec MP: Human excimer laser keratectomy. Clinical and histopathologic correlations. *Ophthalmology.* 1994 Jun;101(6):979-89.
69. Malley DS, Steinert RF, Puliafito CA, Dobi ET: Immunofluorescence study of corneal wound healing after excimer laser anterior keratectomy in the monkey eye. *Arch Ophthalmol.* 1990 Sep;108(9):1316-22.
70. Hanna KD, Pouliquen Y, Waring GO 3rd, Savoldelli M, Cotter J, Morton K, Menasche M: Corneal stromal wound healing in rabbits after 193-nm excimer laser surface ablation. *Arch Ophthalmol.* 1989 Jun;107(6):895-901.
71. Gaster RN, Binder PS, Coalwell K, Berns M, McCord RC, Burstein NL: Corneal surface ablation by 193 nm excimer laser and wound healing in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989 Jan;30(1):90-8
72. Marshall J, Trokel SL, Rothery S, Krueger RR: Long-term healing of the central cornea after photorefractive keratectomy using an excimer laser. *Ophthalmology.* 1988 Oct;95(10):1411-21.
73. Fantes FE, Hanna KD, Waring GO 3rd, Pouliquen Y, Thompson KP, Savoldelli M: Wound healing after excimer laser keratomileusis (photorefractive keratectomy) in monkeys. *Arch Ophthalmol.* 1990 May;108(5):665-75.
74. Reidy JJ, Jacobson MS, Thompson HW, Beuerman RW, Leach DH, McDonald MB: Comparison of corneal epithelial wound healing after photorefractive and lamellar keratectomy. *J Refract Surg.* 1996 Mar-Apr;12(3):352-7.

75. Seiler T, Matallana M, Sendler S, Bende T: Does Bowman's layer determine the biomechanical properties of the cornea? *Refract Corneal Surg.* 1992 Mar-Apr;8(2):139-42.
76. Ehlers N, Hjortdal JO: Excimer laser refractive keratectomy for high myopia. 6-month follow-up of patients treated bilaterally. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1992 Oct;70(5):578-86.
77. Kim JH, Hahn TW, Lee YC, Joo CK, Sah WJ: Photorefractive keratectomy in 202 myopic eyes: one year results. *Refract Corneal Surg.* 1993 Mar-Apr;9(2 Suppl):S11-6.
78. Marshall J, Trokel S, Rothery S, Schubert H: An ultrastructural study of corneal incisions induced by an excimer laser at 193 nm. *Ophthalmology.* 1985 Jun;92(6):749-58.
79. Sinbawy A, McDonnell PJ, Moreira H: Surface ultrastructure after excimer laser ablation. Expanding vs contracting apertures. *Arch Ophthalmol.* 1991 Nov;109(11):1531-3.
80. Kerr-Muir MG, Trokel SL, Marshall J, Rothery S: Ultrastructural comparison of conventional surgical and argon fluoride excimer laser keratectomy. *Am J Ophthalmol.* 1987 Mar 15;103(3 Pt 2):448-53.
81. Collen D, Lijnen HR, De Cock F, et al.: Kinetic properties of tripeptide lysyl chloromethyl ketone and lysyl p-nitroanilide derivatives towards trypsin-like serine proteinases. *Biochim Biophys Acta.* 1980 Sep 9;615(1):158-66.
82. Saksela O: Plasminogen activation and regulation of pericellular proteolysis. *Biochim Biophys Acta.* 1985 Nov 12;823(1):35-65.
83. Tryggvason K, Höyhty M, Salo T: Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion. *Biochim Biophys Acta.* 1987 Nov 25;907(3):191-217.
84. Hayashi K, Sueishi K: Fibrinolytic activity and species of plasminogen activator in human tears. *Exp Eye Res.* 1988 Feb;46(2):131-7.
85. Grøndahl-Hansen J, Lund LR, Ralfkiaer E, et al.: Urokinase- and tissue-type plasminogen activators in keratinocytes during wound reepithelialization in vivo. *J Invest Dermatol.* 1988 Jun;90(6):790-5.

86. Schäfer BM, Maier K, Eickhoff U, et al.: Plasminogen activation in healing human wounds. *Am J Pathol.* 1994 Jun;144(6):1269-80.
87. Steiber Z, Ehlers N, Heegaard S, et al.: Brown cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008 Apr;246(4):537-541.
88. Csutak A, Silver DM, Sperka T, et al.: Urokinase down-regulation by aprotinin in rabbit corneal cells after photorefractive keratectomy. *Curr Eye Res.* 2010 Sep;35(9):806-11. doi: 10.3109/02713683.2010.490319.
89. Pandolfi M, Astrup T: A histochemical study of the fibrinolytic activity. Cornea, conjunctiva, and lacrimal gland. *Arch Ophthalmol.* 1967 Feb;77(2):258-64.
90. Pandolfi M, Lantz E: Partial purification and characterization of keratokinase, the fibrinolytic activator of the cornea. *Exp Eye Res.* 1979 Nov;29(5):563-71.
91. Lantz E, Pandolfi M: Fibrinolysis in cornea and conjunctiva: evidence of two types of activators. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1986;224(5):393-6.
92. Leonardi A, Brun P, Sartori MT, et al.: Urokinase plasminogen activator, uPa receptor, and its inhibitor in vernal keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Apr;46(4):1364-70.
93. Prause JU: Serum albumin, serum antiproteases and polymorphonuclear leucocyte neutral collagenolytic protease in the tear fluid of patients with corneal ulcers. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1983 Apr;61(2):272-82.
94. Berta A, Tözsér J, Holly FJ: Determination of plasminogen activator activities in normal and pathological human tears. The significance of tear plasminogen activators in the inflammatory and traumatic lesions of the cornea and the conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1990 Oct;68(5):508-14.
95. Massaro-Giordano M¹, Marshall CM, Lavker RM, Jensen PJ, Risse Marsh BC: Plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) is present in normal human conjunctiva. *J Cell Physiol.* 2005 Nov;205(2):295-301.
96. Blasi F: The urokinase receptor and cell migration. *Semin Thromb Hemost.* 1996;22(6):513-6.
97. Hayashi K, Berman M, Smith D, et al.: Pathogenesis of corneal epithelial defects: role of plasminogen activator. *Curr Eye Res.* 1991 May;10(5):381-98.

98. Møller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM, et al: Corneal haze development after PRK is regulated by volume of stromal tissue removal. *Cornea*. 1998 Nov;17(6):627-39.
99. van Setten GB, Salonen EM, Vaheri A, et al.: Plasmin and plasminogen activator activities in tear fluid during corneal wound healing after anterior keratectomy. *Curr Eye Res*. 1989 Dec;8(12):1293-8.
100. Csutak A, Silver DM, Tozsér J, et al.: Plasminogen activator activity and inhibition in rabbit tears after photorefractive keratectomy. *Exp Eye Res*. 2003 Dec;77(6):675-80.
101. O'Brart DP, Lohmann CP, Klonos G, et al.: The effects of topical corticosteroids and plasmin inhibitors on refractive outcome, haze, and visual performance after photorefractive keratectomy. A prospective, randomized, observer-masked study. *Ophthalmology*. 1994 Sep;101(9):1565-74.
102. Astedt B, Lecander I, Brodin T, et al.: Purification of a specific placental plasminogen activator inhibitor by monoclonal antibody and its complex formation with plasminogen activator. *Thromb Haemost*. 1985 Feb 18;53(1):122-5.
103. Brenner B: Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res*. 2004;114(5-6):409-414.
104. Hui C, Lili M, Libin C, Rui Z, Fang G, Ling G, Jianping Z: Changes in coagulation and hemodynamics during pregnancy: a prospective longitudinal study of 58 cases. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 May;285(5):1231-1236. doi: 10.1007/s00404-011-2137-x. Epub 2011 Nov 15.
105. Koh SC, Anandakumar C, Biswas A, et al.: Enhanced PAI-1 levels from early second trimester and during labour and plasminogen activators in normal pregnancy. *Thromb Haemost*. 2002 Jan;87(1):175-6.
106. Coolman M, de Groot CJ, Steegers EA, et al.: Concentrations of plasminogen activators and their inhibitors in blood preconceptionally, during and after pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006 Sep-Oct;128(1-2):22-8. Epub 2006 Apr 11.
107. Greer IA: Thrombophilia: implications for pregnancy outcome. *Thromb Res*. 2003 Jan 25;109(2-3):73-81.

108. van Wersch JW, Ubachs JM: Blood coagulation and fibrinolysis during normal pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1991 Jan;29(1):45-50.
109. Kosugi T, Takagi I, Kinjo K, et al.: Interaction of fibrinolytic activity between the tracheobronchial secretion and circulating blood of rats. *Laryngoscope.* 1984 Mar;94(3):386-90.

10. FÜGGELÉK



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/164/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

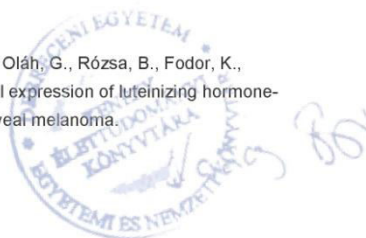
Jelölt: Steiber Zita
Neptun kód: D06K40
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10034850

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Steiber, Z.**, Tózsér, J., Silver, D.M., Jakab, A., Németh, G., Berta, A., Csutak, A.: Plasminogen activator inhibitor type 2 in human tears and blood during pregnancy.
Int. J. Ophthalmol. Eye Res. 3 (7), 121-125, 2015.
2. **Steiber, Z.**, Ehlers, N., Heegaard, S., Hjortdal, J., Berta, A., Prause, J.U.: Brown cornea.
Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 246 (4), 537-541, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-007-0736-9>
IF:1.77
3. Csutak, A., Silver, D.M., Tózsér, J., **Steiber, Z.**, Bagossi, P., Hassan, Z., Berta, A.: Plasminogen activator inhibitor in human tears after laser refractive surgery.
J. Cataract. Refract. Surg. 34 (6), 897-901, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2008.02.024>
IF:2.508

További közlemények

4. Treszl, A., **Steiber, Z.**, Schally, A.V., Block, N.L., Dezső, B., Oláh, G., Rózsa, B., Fodor, K., Buglyó, A., Gardi, J., Berta, A., Halmos, G.: Substantial expression of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) receptor type I in human uveal melanoma.
Oncotarget. 4 (10), 1721-1728, 2013.
IF:6.627



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. • Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. • Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu • Honlap: www.lib.unideb.hu



5. Oláh G., **Steiber Z.**, Halmos G.: Iránytű műkönyvekhez: Gyógyszerészeknek.
Gyógyszerészet. 57 (65-128), 77-80, 2013.
6. Oláh G., **Steiber Z.**, Halmos G.: Mi folyik a műkönyvekkel?
Gyógyszerészet. 56 (11), 663-666, 2012.
7. Nagy, V., Takács, L., **Steiber, Z.**, Pfliegler, G., Berta, A.: Thrombophilic screening in retinal artery occlusion patients.
Clin. Ophthalmol. 2 (3), 557-561, 2008.
8. Balázs, E., Nagy, E., Tóth, K., **Steiber, Z.**, Kertész, K., Szűcs-Farkas, Z., Berta, A.: Erfahrungen mit transpalpebraler orbitaler Lippektomie.
Ophthalmologe. 103 (6), 517-522, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00347-006-1342-7>
IF:0.762
9. Nagy, V., **Steiber, Z.**, Takács, L., Vereb, G., Berta, A., Bereczky, Z., Pfliegler, G.: Trombophilic screening for nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy.
Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 244 (1), 3-8, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00417-005-1154-5>
IF:1.609
10. Módos L., **Steiber Z.**, Komár T., Tóth E., Berta A.: Amnionmembrán-transzplantációval kezelt corneabetegségek.
Szemészet. 142 (3), 153-159, 2005.
11. Vámosi P., **Steiber Z.**, Berta A.: A hátsó toki homály incidenciájának vizsgálata extracapsularis cataracta-extractiót követő hátsó csarnoki lencse beültetése után.
Szemészet. 138 (4), 185-190, 2001.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 13,276

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 4,278

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

Debrecen, 2015.08.31.