

**Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei**

**CITOKINEK MEGHATÁROZÁSA KÖNNYBŐL A SZEM ELÜLSŐ  
SZEGMENTUMÁNAK BETEGSÉGEIBEN  
(KÜLÖNÖS TEKINTETTEL PERFORÁLÓ KERATOPLASTICA  
ESETÉBEN)**

**Dr. Fodor Mariann**

Témavezetők: Dr. Facskó Andrea és

Dr. Berta András



**DEBRECENI EGYETEM**

**Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

**Debrecen, 2009**

Egyetemi Doktori (Ph.D.) értekezés védése  
A doktorjelölt neve: Dr. Fodor Mariann

Az értekezés címe: Citokinek meghatározása könnyből a szem elülső szegmentumának betegségeiben (különös tekintettel perforáló keratoplastica esetében)

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezetők: Dr. Facskó Andrea és Prof. Dr. Berta András

A szigorlati bizottság

Elnöke: Prof. Dr. Gergely Pál, akadémikus  
Tagok: Prof. Dr. Rácz Péter, az MTA doktora  
Prof. Dr. Szekanecz Zoltán, az MTA doktora

Bíráló bizottság

Elnöke: Prof. Dr. Gergely Pál, akadémikus  
Opponensek: Prof. Hatvani István, kandidátus  
Dr. Gergely Lajos, PhD  
Tagok: Prof. Dr. Rácz Péter, az MTA doktora  
Prof. Dr. Szekanecz Zoltán, az MTA doktora

A vita időpontja és helye: 2009. október 21. szerda, 13.00, DEOEC I. Belgyógyászati  
Klinika Tanterme

## 1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A könny minőségi és mennyiségi változása a szem elülső szegmentumának betegségeiben fontos paraméter, amelynek ismerete a különböző betegségek folyamataiban speciálisan jellemző adatokat szolgáltatathat. A könny számos specifikus és non-specifikus immunkomponenst is tartalmaz.

Az immunrendszer sejtjei állandó kölcsönhatásban állnak egymással, egyrészt közvetlen sejt-sejt kontaktus, másrészt citokinek útján. Ezekben a sejt kommunikációkban ezen polipeptid regulátoroknak (glükoproteinek/proteinek/peptidek) nagyon fontos szerepe van. Tehát a gyulladásos reakciók folyamatában a citokinek az intercelluláris kommunikációban alapvető fontosságú mediátorok. A citokinek egyedül vagy kombinációban aktiválják az immunsejteket és egy korai szignált jelentenek, valamint kifejtik amplifikáló hatásukat többek között a nyálkahártyák immunológiai válaszaiban.

A citokinek a normál cornea integritásának fenntartásában is szerepet játszanak. Részt vesznek a szemfelszín gyulladásos és immunológiai reakcióinak szabályozásában is. Ophthalmológiai gyulladásos és postoperatív folyamatokban játszott pontos szerepük még tisztázásra vár.

Az **interleukin-6** (IL-6) egy pluripotens pro-inflammatoricus citokin, mely a gyulladások mediálásán kívül szerepet játszik a gyulladásos folyamatok csökkentésében és a szem immun-privilégiumának helyreállításában is. Az IL-6-ot csarnokvízből, könnyből és a corneában is kimutatták már. Szerepe különböző szemfelszíni gyulladásos folyamatok pathogenesisében igazolt, többek között keratopathia bullosa, keratitisek, keratoconus, ulcus corneae, kontaktlencse viselés és uveitis eseteiben. Cataracta műtétek utáni postoperatív gyulladások esetén alapvető funkciója van, mivel a collagen szintézist stimulálja, így a sebgyógyulásban is aktív résztvevő.

Az **interleukin-8** (IL-8) az egyik legjelentősebb specifikus citokin, ún. kemokin. Magas koncentrációban mutattak ki IL-8-at csukott szemből vett könnyben, kontaktlencse viselésnél, conjunctivitis allergicában és Sjögren szindróma estén fennálló keratoconjunctivitisnél.

Az **interleukin-1** (IL-1) két különböző gén termékeként IL-1-alfa- és IL-1-béta-polipeptidekből áll. Pro-inflammatoricus tulajdonsága révén az IL-1 $\beta$  a gyulladásos kaszkád elindítójaként funkcionál. Az IL-1 a Langerhans sejtek centripetális mozgásának indukálója, valamint a keratocyták apoptózisát is mediálja. Multifunkcionális tulajdonsága révén a cornea szöveti károsodásától a szöveti helyreállító, gyógyulási folyamatokig szerepet kap. Rosacea és conjunctivochalasis eseteiben emelkedett IL-1 koncentrációt mutattak ki könnyben.

A **tumornekrózis-faktor** (TNF) egy pro-inflammatoricus citokin, melynek multiplex biológiai funkciója közül a fibroblast proliferáció indukciója és az angiogenezisben betöltött szerepe a legjelentősebb, így fontos szerepet kap a cornealis sebgyógyulásban is. A TNF- $\alpha$  stimulálja az IL-8 kiválasztást, ezáltal a gyulladásos folyamatokat is elnyújtja. A TNF- $\alpha$  az egyik legfontosabb anti-inflammatoricus citokinnek, az IL-10 szintézisének is a legfőbb indukálója.

Az **interleukin-10** (IL-10) az elülső csarnokhoz kötött immundeviáció (anterior chamber-associated immune deviation=ACAID) fenntartásához elengedhetetlen. Az IL-10 angiogenikus potenciállal is rendelkezik, emellett a monocytákban és macrophagokban csökkenti az MHC-II-es molekulák expresszióját, megakadályozva ezzel azok antigén-prezentáló funkcióját. Az IL-10 más pro-inflammatoricus citokinek termelését is csökkenti, úgymint az IL-1 $\beta$ , a TNF- $\alpha$  és IL-8.

Az **interleukin-12** (IL-12) a gyulladásos válasz fontos szabályozója, biológiailag aktív formája a 70 kDa heterodimer (IL-12p70), mely két alegységből áll (40 kDa –p40; 35 kDa-p35). Az IL-12 szerepét már vizsgálták a különböző szövetek és szervek transplantatum rejectiója kapcsán.

A cornea transplantatio a leggyakrabban végzett, de immunbiológiáját tekintve a legkevésbé ismert formája az allogenicus átültetésnek. A keratoplastica a szövet-transplantatiók egyik legsikeresebb formája. A magas eredményességi ráta a speciális corneális mikrokörnyezet következménye. Ez magában foglalja a recipiens corneák egy részének avascularis tulajdonságát, az antigénprezentáló Langerhans sejtek hiányát a cornea centrális részéből, a major MHC antigének alacsony expresszióját, az immunszuppresszív citokinek lokális termelődését, a Fas ligand

expresszióját. A cornea immunprivilegizált helyzete ellenére is, a sikertelen szaruhártya átültetések legfőbb oka még ma is a kilökődési reakció.

A keratoplasticán átesett betegek utókezelésében nagy szükség lenne olyan könnyen kivitelezhető, gyors eredményt adó vizsgálómódszerekre, melyekkel az immunológiai reakció korán, lehetőleg a klinikai tünetek fellépte előtt kimutatható. Megfelelő módszer birtokában az immunsuppressív kezelést egyénre szabottan, megfelelő időben lehetne elindítani és ezzel a transplantatum rejectiók számát vissza lehetne szorítani. Minél jobban megértjük a cornea rejectio alatt bekövetkező citokin secretio változását és a rejectióban résztvevő citokinek funkcióját, annál eredményesebben javíthatóak a terápiás és prevenciós lehetőségek. A Debreceni Szemklinikán 1979 óta végzünk könnyvizsgálatokat keratoplasticán átesett betegeken, a transplantatum rejectio vizsgálata céljából.

A perforáló keratoplasticát (PKP) követő postoperatív szakban a különböző citokinek jelentősége, mennyiségi és pathológiás változása jelenleg még nem tisztázott. Feltételezhető, hogy a különböző citokinek szintje nemcsak PKP után kialakult rejectio miatt változhat. Ha a komplikációmentes (azaz kilökődési/immunológiai reakció nélküli) szaruhártya-átültetéseket modellezni próbáljuk, ez a pathológiás humán könny secretio három alaptípusával lehetséges: (1) a műtéti trauma modellezése különböző postoperatív állapotoknál, (2) PKP-s varrat által okozott irritáció és következményes reflexes könnyezés, melyet gyulladás nélküli corneális idegentest okozta hypersecretioval modellezzük, (3) komplikációmentes PKP-k után gyulladás is módosítja a könnyben lévő citokinek szintjét, melyet bakteriális conjunctivitis okozta hypersecretioval lehet részben modellezni.

Szaruhártya kilökődési reakció esetén a citokin és kemokin expresszióban történő változásokat állatmodellekben mind mRNS, mind fehérje tekintetében vizsgálták, és humán csarnokvízből történő fehérje vizsgálatokról számos adat áll rendelkezésre az irodalomban. A transplantatum rejectiot okozó sejteket, indirekt módon, a csarnokvízből meghatározott citokin szintekkel jellemezték. Immunrejectio esetén a noninvazív módon gyűjtött könnyből történő citokin meghatározás

lehetőséget biztosíthat a cornea rétegeinek destrukciójában résztvevő citokinek meghatározásához.

## **2. Célkitűzések**

- I. Interleukin-6 és interleukin-8 szintek meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő különböző irritatív szembetegségek, postoperatív állapotok eseteiben, hogy új adatokat nyerhessünk a különböző immunológiai változásokról a szemészeti műtéteket követő korai postoperatív szakban, különös tekintettel a szaruhártya átültetések eseteire.
- II. Komplikáció nélküli perforáló keratoplasticán átesett betegek könnyéből gyulladásos citokinek (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 és IL-12p70) koncentrációjában történő változások tanulmányozása a postoperatív első év folyamán.
- III. Célunk volt a kilökődési reakcióban szerepet játszó citokineket meghatározni; valamint különbséget keresni a transplantatum rejectio hatására létrejövő citokin koncentrációkban bekövetkező változások és a komplikációmentes szaruhártya-átültetéssel együtt járó változások között. A különböző postoperatív időszakban komplikáció nélküli és graft rejectión átesett betegek esetében inflammatoricus citokinek (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 és IL-12p70) szintjének összehasonlítása.

### 3. Betegek és módszerek

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum (DEOEC) Szemklinikáján prospektív tanulmányokat végeztünk. A vizsgálatba bevont betegek és egészséges kontrollok nem szedtek olyan gyógyszert, ami befolyásolta volna a könnytermelést, valamint immunológiai eredetű betegségben sem szenvedtek. Tanulmányainkat a Helsinki Deklaráció normáinak megfelelően végeztük, a könnyminta-vételek a betegek beleegyezésével történtek.

#### 3.1. *Betegcsoportok*

##### 3.1.1. A beteganyagot négy csoportba osztottunk.

Az *első csoportba* acut bacterialis conjunctivitis diagnózissal 11 beteg (átlagéletkor: 46,9 év (SD 18,3)) tartozott. Kötőhártya váladék tenyésztése nélkül, az egyértelmű klinikai tünetek alapján történt a diagnózis felállítása. Könnyminta-vétel előtt a betegek nem használtak szemcseppet.

A *második csoportba* 12 beteg (átlagéletkor: 67,3 év (SD 11,4)) tartozott, akikről egy nappal a komplikációmentes cataracta műtét után, szemcsepp alkalmazása előtt történt a mintavétel. Hét beteg phacoemulsification, öt beteg extracapsularis cataracta extraction esett át, hátsó csarnoki műlencse (posterior chamber lens, PCL) implantációval.

A *harmadik csoportba* 7 beteg (átlagéletkor: 44,3 év (SD 7,8)) tartozott, akiknél a 12 órán belül a corneába került fém idegentest kifejezett könnyezést váltott ki, gyulladásos reakció jelenléte nélkül. Könnyminta-vétel előtt a betegek nem kaptak terápiát.

A *negyedik csoportba* 30 perforáló keratoplasticán átesett beteg (átlagéletkor: 54,7 év (SD 19,4)) tartozott, egy héttel a komplikációmentes műtét után. A műtéti indikációk között keratoconus (9 szem), pseudophakiás bullosus keratopathia (10 szem), cornealis erezettség (6 szem), transplantatum rejectio (4 szem) és egy esetben keratouveitis szerepelt. A donor corneákat maximum egy hétig tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA). Műtét után a betegek naponta öt alkalommal kaptak corticosteroid (prednisolon acetát) és antibiotikum (neomycin) tartalmú

szemcseppet. Három esetben subconjunctivalis steroid injekcióra, öt beteg esetében intravénás vagy orális corticosteroid terápiára volt szükség. A könnymintákat kora reggel vettük, még az első szemcsepp becseppentése előtt.

A betegeken kívül 52 egészséges *kontroll* (átlagéletkor: 54,8 év (SD 21,9)) könnymintáinak vizsgálatát is elvégeztük.

**3.1.2./3.1.3.** Tizenkét perforáló keratoplasticán átesett beteg érintett szeméből meghatározott rendszerességgel stimulálás nélkül könnymintát gyűjtöttünk. A betegek átlagéletkora 45,0 év volt (18-70 év között, SD 14,2). A PKP indikációja között keratoconus, transplantatum rejectio/re-PKP, Salzmann-féle cornea degeneratio, dystrophia hereditaria endothelialis corneae, keratopathia bullosa, és pannus corneae szerepelt. Kilenc komplikáció, azaz kilökődési reakciótól mentes beteg esetében postoperatív egy évig történtek a könnyminta-vételek. Három cornealis transplantatum rejectio klinikai jeleit mutató beteg esetében a kilökődési reakció felléptéig gyűjtöttük a könnymintát, így egy beteg esetében ez 14 hónapos postoperatív időszakot jelentett. A donor corneákat maximum egy hétig tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA). Műtét után a betegek naponta öt alkalommal kaptak corticosteroid (prednisolon acetát) és antibiotikum (neomycin sulphat) tartalmú szemcseppet. 5 fokozott kockázatú beteg (rekeratoplastica illetve vascularisalt recipiens) esetében a postoperatív időszakban szisztémás steroid terápiát alkalmaztunk (intravénás (kezdeti dózis: 1 mg/testsúly kg/nap) vagy orális (kezdeti dózis: 0,5 mg/testsúly kg/nap) corticosteroid). Amíg a betegek a Szemklinikán tartózkodtak (a postoperatív első héten), a könnyminta-vételek kora reggel, szemcseppek alkalmazása előtt történtek meg. Kontrollok alkalmával a mintavétel a délelőtti órákban zajlott, szemcseppentést követően több mint egy óra elteltével.

### **3.2. Könnygyűjtés menete**

**3.2.1./3.2.2./3.2.3.** Könnygyűjtés előtt réslámpával minden beteget megvizsgáltunk alacsony fényerő mellett, hogy a reflexes könnyezést elkerüljük. Stimulálás nélkül, atraumatikusan steril üvegkapillárisba gyűjtöttük a könnymintákat, érzéstelenítő csepp adása nélkül, az alsó könny-meniscusból, ügyelve arra, hogy a szemfelszínt és a szemhéjat ne érintsük. A mintavételi idő minden esetben pontosan 2 perc volt, a levett könny mennyiségét feljegyeztük. A levett könnymintákat 15 percen belül, centrifugálás nélkül  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra fagyasztottuk le a felhasználásig.

**3.2.2./3.2.3.** A pipettázási és hígítási hibák elkerülése végett azokat a könnymintákat, amelyek  $4\text{ }\mu\text{l}$  alattiak voltak kizártuk a vizsgálatból. Néhány esetben „száraz szem” miatt nem tudtunk könnymintát gyűjteni. A könnygyűjtés a műtét napján, majd az első, harmadik és hetedik postoperatív napon reggel 7.30 és 8.00 között, az első cseppentés előtt történt, majd ezt követően minden egyes szemészeti kontroll alkalmával. Transplantatum rejectio eseteiben a könnyminta-vétel a nem lokálisan alkalmazott immunszuppresszív terápia alkalmazása előtt megtörtént.

**3.2.3.** Corneális endotheliális rejectiót definíció szerint akut gyulladásos epizód esetén diagnosztizáltunk, amennyiben vagy endothelialis precipitatumokat és/vagy stroma oedemát megnövekedett centralis cornealis vatagsággal igazoltunk.

### **3.3. Citokin mérési módszerek**

**3.3.1.** A könnyminták összfehérjéjének (TP) (bicinchoninic acid protein-assay kit, Rockford, IL, USA) meghatározása után interleukin-6 és interleukin-8 koncentráció meghatározást végeztünk (ultraszenzitív ELISA; BioSource International, Inc. Nivells, Belgium) a gyártó használati utasítása szerint. A teszt érzékenysége mindkét citokin esetében  $<0,1\text{ pg/ml}$  volt, IL-6 esetében a mérési tartomány  $0,16\text{--}10,0\text{ pg/ml}$  között, IL-8 esetében  $0,39\text{--}25\text{ pg/ml}$  között mozgott.

**3.3.2./3.3.3.** A könnyminták IL- $1\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 és IL-12p70 koncentrációját cytometric bead array (CBA) technika (CBA Human Inflammation kit, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA) alkalmazásával áramlási flow citométerrel végzett mérések alapján határoztuk meg. Röviden,  $15\text{ }\mu\text{l}$  könnymintát (néhány

esetben hígított könnymintát) vagy standard reagenst adtunk 15 µl csapda antitest-gyöngy reagenshez (capture Ab-bead reagent). Az elegyet 30 percig inkubáltuk, majd 15 µl detektáló antitest-phycoerythrin conjugát (detector Ab-phycoerythrin conjugate) hozzáadása után további 2,5 órán át szobahőmérsékleten inkubáltuk. Mérés előtt a nem kötött reagenseket mosással eltávolítottuk. A minták citokin koncentrációjának lemérése FACSArray™ citometerrel (BD Biosciences Immunocytometry Systems, San Jose, CA) történt. Az adatok analizálását BD cytometric bead array software (FCAP Array 1.0.1 program, SoftFlow Kft., Pécs) segítségével végeztük el. A standard görbéket a gyártó által szolgáltatott referencia citokin koncentrációk alapján szerkesztettük meg. Az ismert koncentrációjú humán citokin standard minták további hígításával a gyártó által garantálnál nagyobb szenzitivitást sikerült elérnünk: IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-8 és IL-12p70 esetén 0,04 pg, IL-10 esetén 0,02 pg volt a mérési határ.

### **3.4. Speciális számítási módszer**

**3.4.1.** Az IL-6 és IL-8 release-t a citokin koncentrációkból (pg/µl) és a két perc alatt gyűjtött könny mennyiségéből (µl) számoltuk ki. A TP release-t az összfehérje koncentrációból (µg/µl) és a két perc alatt gyűjtött könny mennyiségéből (µl) határoztuk meg.

### **3.5. Statisztika módszerek**

**3.5.1.** A különböző betegcsoportok eredményeit egymással, valamint a normál kontrollokkal hasonlítottuk össze. Lineáris regresziót alkalmaztunk az adatok elemzésénél. A statisztikai elemzésnél STATA Version 8.2-t használtunk. A szignifikancia kritériuma  $\alpha=0,05$  volt. A változókat a normalitás javítása céljából mindig a legjobb hatást elérő módszerrel transzformáltuk. A kort, az összfehérjét, az IL-6 release-t és az IL-8 release-t valamint ezek arányait log-transzformáltuk. A könnytérfogatot és az IL koncentrációt négyzetgyök-transzformáltuk. A koncentrációt korra és a levett könny mennyiségére, a release értékeket korra korrigáltuk.

**3.5.2.** Kilenc komplikációmentes keratoplasticán átesett beteg postoperatív egy év alatt gyűjtött könnymintáinak átlagos citokin koncentrációinak időbeni lefutását helyi súlyozású regressziós simításos elemzéssel határoztuk meg.

**3.5.3.** A könnyminták térfogatát, a citokinek koncentrációját és a citokinek IL-10-re vonatkozó arányát Wilcoxon teszt segítségével hasonlítottuk össze a rejekción átesett és a komplikációmentes szaruhártya-átültetések esetei között. A betegcsoportonkénti átlagos citokin koncentrációk időbeni lefutását helyi súlyozású regressziós simításos elemzéssel határoztuk meg. A szignifikancia szintet minden esetben 0,05 alatti p értéknél határoztuk meg.

## **4. Eredmények**

**4.1.** A két perc alatt gyűjtött könnyminták mennyisége 2,2 µl (az egyik kontroll) és 121,7 µl (acut bacterialis conjunctivitis csoportba tartozó beteg) között változott. Ez a különbség 55-szörös. Mivel a kontrolloktól levett könny mennyisége (alap könnytermelés) szignifikánsan kisebb ( $p < 0,001$ ), mint a betegcsoportoktól gyűjthető könny mennyisége (reflexes könnyezés, fokozott transudatio okaként) így kíváncsi volt a koncentrációk mellett az időegység alatt gyűjthető TP illetve citokin mennyiségének (release) vizsgálata, és ezen eredmények összehasonlítása.

Egészséges kontrolloknál az IL-6 koncentráció 110 pg/ml (SD 142) volt. Szignifikánsan magasabb volt az átlagos IL-6 koncentráció az acut bacterialis conjunctivitis csoportban és a PKP csoportban (366 pg/ml (SD 296),  $p < 0,001$  és 170 pg/ml (SD 235),  $p = 0,04$ ). Az IL-6 koncentráció cataracta műtét után 189 pg/ml (SD 184), cornealis idegentest esetén 109 pg/ml (SD 72) volt, melyek nem különböztek szignifikánsan a kontrollokhöz képest.

Az IL-6 release az acut bacterialis conjunctivitis esetén 20 pg (SD 21); cataracta műtét után 5 pg (SD 5,2); cornealis idegentest esetén 6,3 pg (SD 4,6) míg a PKP csoportban 6,6 (SD 6,7) volt. Az IL-6 release az összes betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (0,6 pg (SD 0,7)) (cataracta műtét

után:  $p=0,003$ ; többi csoport:  $p<0,001$ ). A vizsgált három betegcsoport között azonban nem volt szignifikáns különbség.

Egészséges kontrolloknál az IL-8 koncentráció 572 pg/ml (SD 637) volt. Szignifikánsan magasabb volt az átlagos IL-8 koncentráció az akut bakteriális conjunctivitis csoportban (661 pg/ml (SD 550);  $p=0,04$ ). Az IL-8 koncentráció cataracta műtét után 171 pg/ml (SD 144); cornealis idegentest esetén 203 pg/ml (SD 170) míg a PKP csoportban 220 pg/ml (SD 277) volt. Az IL-8 koncentráció ezekben a csoportokban nem különbözött szignifikánsan a kontrollokhöz képest. Az IL-8 release a kontrolloknál 2,8 pg (SD 2,9) volt. Az IL-8 release a cataracta műtéten átesett betegeknél (4,4 pg (SD 4,2) nem különbözött szignifikánsan a kontrolloktól, azonban a többi betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (acute bakteriális conjunctivitis: 31 pg (SD 35),  $p=0,001$ ; cornealis idegen test: 13 pg (SD 13),  $p=0,03$ ; PKP: 8,6 pg (SD 5,4)  $p<0,001$ ). A vizsgált három betegcsoport között azonban IL-8 koncentráció és release tekintetében nem volt szignifikáns különbség.

Megvizsgáltuk az IL-6 és IL-8 release és a TP release arányát a különböző betegcsoportokban és összehasonlítottuk a kontroll csoportnál kapott aránnyal. Az IL-6/TP release arány az összes betegcsoportban szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (acute bakteriális conjunctivitis:  $p=0,01$ ; cataracta műtétek után:  $p=0,048$ ; cornealis fém idegentest és PKP eseteiben:  $p<0,01$ ). Az IL-6/TP koncentráció arány az acute bakteriális conjunctivitis diagnózisú betegcsoportnál ( $p=0,04$ ) és a cornealis fém idegentestet tartalmazó csoportnál ( $p=0,03$ ) szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoport arányához képest. Sem az IL-8/TP release arány, sem az IL-8/TP koncentráció arány nem mutatott szignifikáns különbséget a betegcsoportokban a kontrollokhöz képest. Sem az IL-6/IL-8 release, sem az IL-6/IL-8 koncentráció nem volt szignifikánsan magasabb a betegcsoportokban a kontrollokhöz viszonyítva.

**4.2.** Kilenc komplikációmentes keratoplastican átesett betegtől egy év alatt összesen 76 könnymintát gyűjtöttünk. A 9 komplikációmentes PKP közül kettő magas, 7 alacsony rizikójú csoportba tartozott. Az egyes betegek könnyében mért

citokinek koncentrációjának időbeli változása hasonló mintázatot mutatott. Maga a műtéti trauma az összes citokin tekintetében nagymértékű kiáramlást okozott. A legmagasabb koncentráció-emelkedést a praeoperatív értékhez képest az első postoperatív napon az IL-6 (25-szörös) és az IL-8 esetén (8-szoros) kaptuk. IL-10 és TNF- $\alpha$  esetén a postoperatív egy év folyamán bifázisos választ láttunk. Egy évvel a PKP-t követően az IL-1 $\beta$ , az IL-6 és az IL-8 koncentrációja visszatért a beültetés előtti szintre.

**4.3.** A 9 komplikációmentes és a 3 rejection áteső betegből összesen 105 könny minta került lemerésre és értékelésre. Szaruhártya-átültetést követően 14 hónapon belül 3 beteg esetében transzplantátum rejectio következett be, míg 9 betegnél nem észleltünk komplikációt, a corneák transzparenssek maradtak. Mind a három kilökődött cornea esete a nagy kockázatú szaruhártya-átültetések közé tartozott. Az immunrejectio az átültetést követő 216., 422. valamint 83. napon lépett fel. A kilenc komplikációmentes PKP közül kettő magas, hét alacsony rizikójú csoportba tartozott. A két perc alatt gyűjtött könny minták mennyisége között a rejection áteső és komplikációmentes eseteket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget ( $p=0,1$ ).

Habár a különböző betegeknél a citokin koncentrációk a vizsgált postoperatív időszakban nagy különbségeket mutattak, az időbeli változások hasonló, jellegzetes mintázatot adtak. Maga a műtéti stressz gyors citokin kiáramlást okozott. Ez minden esetben kimutatható volt, függetlenül a később esetlegesen bekövetkező kilökődési reakciótól. A korai postoperatív fázisban (1 és 3. nap) az összes vizsgált citokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 és IL-12p70) szintje emelkedett, amelyet inkább a műtéti trauma, mintsem az allogén válasz váltott ki.

Az IL-6 esetében a praeoperatív értékhez képest az első postoperatív napon 25-szörös koncentráció-emelkedést kaptunk, függetlenül a későbbi kilökődési reakciótól. Az IL-8 tekintetében csaknem ötszörös koncentráció-emelkedést váltott ki a műtét a postoperatív első napon a praeoperatív alapállapothoz képest, mely mind a

végig transzparensen maradó, mind a később kilökődő corneák esetében jellemző volt.

A pro-inflammatoricus IL-1 $\beta$  koncentrációjának időbeli lefutása a többi citokinhez képest eltérő mintázatot mutat: a kezdeti alacsony szint közvetlenül a transplantatio után megemelkedik, majd a tisztán maradó korongok eseteiben a postoperatív 6 hónap alatt lassan lecsökken. Ezzel szemben a kilökődő transplantatumok eseteiben a műtétet követő korai citokin release kifejezettebb, amely hirtelen lecsökken, majd a rejectio bekövetkezte előtt egy második csúcsot figyelhetünk meg. Hasonlóan az IL-1 $\beta$ -hoz, az IL-8 koncentrációja is megemelkedik a kilökődési reakció előtt. Ezzel szemben a korai IL-12p70 válasz kifejezetten lecsökken, mind a komplikációmentes, mint a transplantatum rejection áteső betegek eseteiben.

A nem-komplikált PKP estén hasonló bifázisos választ kaptunk az IL-10 és a TNF- $\alpha$  tekintetében. A lassú csökkenés után egy évvel a beültetést követően egy második csúcsot észleltünk e két citokint szemlélve, amely feltehetőleg a postoperatív sebgyógyulással függhet össze. A TNF- $\alpha$  koncentrációja azonban végig, még rejectio bekövetkeztekor is alacsony szinten mozgott.

Az IL-6 és IL-8 koncentrációja szignifikánsan magasabb ( $p=0,009$  és  $p=0,01$ ), míg az IL-10, TNF- $\alpha$  és IL-12p70 koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt ( $p=0,008$ ,  $p=0,006$  és  $p=0,0009$ ) a kilökődési reakción átesett betegek könnyében, a komplikáció nélküli esetekkel összehasonlítva, míg az IL-1 $\beta$  koncentrációja nem különbözött szignifikánsan ( $p=0,383$ ).

Mivel a pro- és anti-inflammatoricus citokinek aránya meghatározza a szem gyulladásos statusát, ezért megvizsgáltuk az IL-6, a TNF- $\alpha$  és az IL-8 koncentrációk IL-10-hez viszonyított arányát is. A kilökődési reakción áteső betegeknél az IL-6/IL-10 és IL-8/IL-10 aránya a vizsgált időszakban végig szignifikánsan magasabb ( $p=0,023$  és  $p=0,015$ ), míg a TNF- $\alpha$ /IL-10 aránya szignifikánsan alacsonyabb ( $p=0,045$ ) volt a komplikációmentes esetekhez képest.

## 5. Megbeszélés

Az elvégzett kutatásaink eredményeképpen betekintést nyertünk a szem elülső szegmentumát érintő különböző gyulladásos megbetegedéseket és posztoperatív állapotokat követő komplex immunológiai történésekbe, valamint ezek humán könnyből történő precíz detektálásának lehetőségébe. Kutatásunk első része rámutatott arra a tényre, hogy a különböző műtéteket követő normális sebgyógyulási folyamatok valamint akut bacterialis conjunctivitis és irritáló cornealis idegentest eseteiben is a citokineknek fontos szerepük van a sejtközi kommunikációban. Kutatásunk második felében képet kaptunk a komplikációmentes perforáló keratoplasticát követő posztoperatív időszak speciális immunbiológiai történéseiről és adatokat nyertünk a cornealis transplantatum rejectióban szerepet játszó különböző citokinek koncentrációjáról és koncentráció változásairól.

Vizsgálataink első lépéseként különböző, a szem elülső szegmentumát érintő pathológiás állapotoknál gyűjtött könnyminták totál protein és kétféle citokin tartalmát hasonlítottuk össze egymással, valamint egészséges kontrollokkal. Jelen vizsgálatunk során igazoltuk, hogy az IL-6 és az IL-8 az egészséges humán könnyben is megtalálható, annak normális alkotórésze. Mindkét citokin a szemfelszín homeosztázisának fenntartásában játszhat szerepet.

A szemfelszíni epithelium által termelt fehérjék esetében a könny secretiós sebessége nagyban befolyásolja a vizsgálandó mediátorok koncentrációját, mert a könny bizonyos esetekben hígítja, kimossa a fehérjéket, csökkentve a protein koncentrációt. Ezért a könnyben lévő anyagok koncentrációját kiértékelni csak a könny secretiós sebességének („tear flow rate”) ismeretében lehet. Jelen első vizsgálatunkban a két perc alatt gyűjtött könny mennyisége szignifikánsan magasabb volt a betegcsoportoknál, a kontrollokhoz képest ( $p < 0,001$ ). A különböző irritatív szembetegségek és posztoperatív állapotok esetén a betegcsoportokon belül az egyes betegektől gyűjthető könny mennyiségében is igen nagy volt a különbség. Ez függ az egyéni érzékenységtől, valamint a betegség stádiumától, súlyosságától is. A betegekből származó minták értékei megbízhatóan csak akkor hasonlíthatóak össze egymással és az egészséges kontrollok eredményeivel, ha az IL koncentráció mellett

a release értékeket is figyelembe vesszük. Ez a release érték az IL koncentráció és az időegység alatt levehető könny mennyiségének szorzata. Mindezekon felül kimutattuk, hogy az összefehérje, az IL-6 és IL-8 release tekintetében az életkornak befolyásoló hatása van, mind a betegeknél, mind a kontrolloknál.

Jelen vizsgálatunk során a pathológiás könny secretio három alaptípusát vizsgáltuk, ezzel részben a komplikációmentes, érzetlen recipiensnél végzett perforáló keratoplasticát kívántuk modellezni:

(1) a keratoplastica utáni postoperatív állapot mindig együtt jár a kötőhártya ereinek megnövekedett permeabilitásával és így a plasma proteinek könnybe történő transudatiójával. Ebből a célból vizsgáltunk az egy nappal cataracta műtéten átesett betegeket.

(2) komplikációmentes perforáló keratoplastica után gyakran észlelhető kifejezett könnyezés a varratok irritáló hatása miatt, így cornealis idegentest miatt könnyező szemeket is bevontunk a vizsgálatba.

(3) a keratoplasticát követő időszakban bár ritkán fordul elő gyulladás, meglete azonban elfedheti a transplantatum rejectio immunológiai jellegzetességeit. Mivel a bacterialis gyulladás a citokinek produkcióját nagyban növeli, ezért az acut bacterialis conjunctivitis pozitív kontrollként is tekinthető. Jelen első vizsgálatunk során a perforáló keratoplasticán átesett betegeken kívül ezt a három, a szem elülső szegmentumát érintő állapotot vizsgáltuk meg, demonstrálva az IL-6 és IL-8 koncentráció és release változásait.

A kontroll csoporthoz képest jelentősen emelkedett IL-6 release volt megfigyelhető valamennyi betegcsoportban, azonban az IL-6 koncentrációja csak acut bacterialis conjunctivitisnél és egy héttel a komplikációmentes keratoplastica után volt szignifikánsan magasabb. A betegcsoportok között szignifikáns különbséget az IL-6 release tekintetében nem találtunk, ez azonban a csoportok relatíve kis létszáma miatti csekély statisztikai erővel is magyarázható.

Az IL-6 az intraocularis és a szemfelszíni gyulladásos folyamatokban is fontos mediátor. Az IL-6 a keratocyták collagen szintézisét, valamint a cornea epithelium

gyógyulását is elősegíti, így a perforáló keratoplastica után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot jelzi, jelezheti.

Vizsgálatunk eredménye azt bizonyítja, hogy az IL-6 nemcsak szemfelszíni gyulladásokban, hanem postoperatív állapotokban, így cataracta műtétet és PKP-t követően is fontos szerepet játszik. Megállapíthatjuk, hogy az IL-6 szenzitív indikátora a különböző irritatív elülső szegmentum szembetegségek megjelenésének, valamint az inflammatorikus és infectiosus állapotokat jellemezheti. A legmagasabb IL-6 release értéket az akut bacterialis conjunctivitis esetén észleltük, amellett, hogy valamennyi betegcsoportban szignifikánsan magasabb értékeket kaptunk a kontrollokéhoz képest.

Szignifikánsan magasabb IL-8 release volt kimutatható az összes betegcsoportban a kontrollokhoz viszonyítva, a cataracta műtéten átesett betegek kivételével. Az IL-8 koncentráció ugyanakkor csak az akut bacterialis conjunctivitis esetében volt szignifikánsan magasabb, a többi betegcsoportban a koncentráció még alacsonyabb is volt, valószínűleg a reflexes könnyezés okozta dilúciós hatás miatt.

A különböző betegcsoportokban tapasztalt magas IL-6 és IL-8 release részben a magasabb könny secretiónak köszönhető. Vizsgálatainkból arra következtethetünk, hogy amikor a könny secretiós sebessége jelentősen különbözik az összehasonlítandó betegcsoportok között, a helyileg képződött fehérjékben történő változások követésére a fehérje release sokkal megbízhatóbb indikátor, mint a koncentráció érték.

Gondolatmenetünket tovább folytatva kerestük a komplikációmentes, azaz kilökődési reakció nélküli szaruhártya átültetéseket követő és jellemző immunológiai történéseket és azok könnyből történő precíz kimutathatóságát. A különböző citokinek jelentősége, normális és pathológiás szintje a keratoplastica postoperatív időszakában nem teljesen ismert. Ahhoz, hogy a kilökődési reakcióban szerepet játszó mediátorokat, citokineket beazonosíthassuk, szerepüket igazoljuk, szükséges volt áttekinteni mely citokinek vesznek részt a normális postoperatív történésekben, a sebgyógyulás bonyolult folyamatában. Komplikáció és kilökődés-mentes PKP után 1 évig hat citokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 és IL-12p70) folyamatos jelenlétét

mutattuk ki könnyben. A korai postoperatív citokin válasz műtéti traumának, szöveti destrukciónak illetve a varróanyag irritáló hatásának tulajdonítható, mintsem az allogén válasznak. Az IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 és IL-12p70 szintje a transplantatio után folyamatosan magas koncentrációban volt kimutatható. Interleukin-10 és TNF- $\alpha$  esetén kapott bifázisos eredmény a postoperatív gyógyulással függhet össze, ugyanúgy, mint a megemelkedett IL-6 koncentráció. Irodalmi adatok szerint a komplikációmentes szaruhártya-átültetések esetében a csarnokvízben nem mutatható ki IL-6 koncentráció-emelkedés. Ezzel ellentétben mi azt igazoltuk, hogy tiszta transplantatumok esetén is, könnyben alacsony koncentrációban folyamatosan mérhető az interleukin-6, melynek szintje csak a postoperatív első év végére jut el a transplantációt megelőző szintre. Erre számos magyarázat létezik: az IL-6-nak nagy szerepe van a cornealis transplantátum transpareniciájának fenntartásában; stimulálja a keratocyták collagen szintézisét; valamint a corneális epithelialis gyógyulást is elősegíti. Tehát a perforáló keratoplastica után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot is jelzi, jelezheti. Az IL-6 része az endogén anti-inflammatoricus rendszernek is. A PKP-t követő emelkedett IL-10 koncentráció szint graft toleranciát kifejtő hatást jelezhet. A graft tolerancia kifejtő effektus az anti-inflammatoricus interleukin modifiáció egyik kifejezője. Megemlítésre érdemes, hogy az IL-1 $\beta$  szintje fél évvel a szaruhártya átültetés után érte el a praetransplantációs, háttér koncentráció szintet.

Összegezve elmondhatjuk, hogy a kapott eredményeink a PKP-t követő komplex immunológiai történésekre, különböző inflammatoricus citokinek fiziológiás postoperatív szerepére és jelentőségére mutat rá.

A perforáló keratoplasticát követő immunológiai történések és a kilökődési reakció bár intenzíven kutatott területek, számos kérdés még megválaszolásra vár. További vizsgálatainkban célunk volt meghatározni a különböző citokinek szerepét a szaruhártya átültetéseket követő kilökődési reakcióban.

Korai postoperatív szakban az általunk vizsgált citokinek koncentrációja mind a később rejection áteső, mind a transpareniciájukat megőrző graftok eseteinek könnymintáiban hirtelen megemelkedik, majd gyorsan lecsökken. Így ez a korai

citokin válasz független a később esetlegesen bekövetkező kilökődési reakciótól. Kimutattuk azonban, hogy azon betegek könnyében, akiknél szaruhártya-átültetést követően transplantatum rejectio következik be, a vizsgált postoperatív egy év folyamán szignifikánsan magasabb az IL-6 és IL-8 szint, és ezzel egyidejűleg alacsonyabb az IL-10, a TNF- $\alpha$  az IL-12p70 koncentrációja, mint a komplikációmentes betegek könnyében.

A komplikáció nélküli esetekhez képest a transplantatum rejection átesett betegek esetében az általunk könnyből kimutatott szignifikáns IL-6 emelkedés alátámasztja azt a korábbi megfigyelést, miszerint PKP-t követő endothelialis rejectionnál csarnokvízben emelkedett IL-6 szint mutatható ki. Az IL-6-nak alapvető szerepe van az átültetett corneális graftok transparenciájának fenntartásában, mivel stimulálja a collagen szintézist és segíti a sebgyógyulást, valamint az endogén anti-inflammatoricus rendszerben is fontos szerepet kap.

Vizsgálatunk azt bizonyítja, hogy a cornealis graft ellenes tolerancia IL-10 által való fenntartása fontos a kilökődési reakció megelőzésében. Ismeretes és nagy fontossággal bír, hogy az IL-10 jelenléte alapvető fontosságú az elülső csarnokhoz kötött immundevisió („anterior chamber-associated immune deviation”) fenntartásában. Ez az anti-inflammatoricus citokin az angiogenezisben is szerepet játszik. Jelen vizsgálatunkban az IL-10 koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt a transplantatum rejection áteső betegeknél, mint a transparens grafttal bíró betegek esetében. Ez az alacsony IL-10 szint az endotheliális immunrejectio eseteiben a transplantatum rejectio pathofiziológiájának fontos jelzője lehet. Saját eredményeinkből feltételezhetjük, hogy a szaruhártya-átültetést követően a könnyben kimutatott emelkedett IL-10 szint a graft toleranciát jelzi, és a kezdődő rejectio során az IL-10 a gyulladásos T-helper válasz egyik gátló faktoraként hathat. Az IL-10 jelenléte csökkenti az MHC II. osztályú membrán fehérjéinek expresszióját a monocyta/macrophag rendszer sejtjein, befolyásolva ezzel antigén prezentáló funkciójukat. Az IL-10 azáltal szabályozza a monocytákat, hogy csökkenti más pro-inflammatoricus citokinek (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  és IL-8) produkcióját.

A vizsgálatainkban használt humán könnymintákból származó eredmények alapján az IL-1 $\beta$  és IL-8 koncentrációja megemelkedett a transplantatum rejectio bekövetkezte előtt. Az IL-1 $\beta$  egy multifunkcionális, pro-inflammatoricus citokin, mely

a corneában képes a gyulladásos kaszkádot elindítani és szöveti károsodást okozni, azonban mindemellett a szöveti újjáépülési ("repair") folyamatokban is szerepet kap. Ezzel magyarázható, hogy saját vizsgálatunkban miért nem találtunk szignifikáns különbséget a kilökődő és a komplikációmentes esetek könnymintáiban mért IL-1 $\beta$  szintek között. Habár az IL-1 $\beta$  koncentrációjában bekövetkező változások nem jelezték előre a transzplantatum kimenetelét, az IL-1 $\beta$ -nak szerepe lehet a kilökődési reakcióban, mely további vizsgálatok elvégzésére ösztönöz. Az IL-1 $\beta$ , IL-8 és TNF- $\alpha$  a neovascularisatio bonyolult folyamatában is részt vesz, és mind a TNF- $\alpha$ , mind az IL-1 $\beta$  autocrin tulajdonsága révén tovább fokozza az IL-6 és IL-8 expresszióját. Fokozott rizikójú cornea transzplantatio esetén pro-inflammatoricus citokinek (IL-1 $\beta$  és TNF- $\alpha$ ) megnövekedett expressziójára hívja fel a figyelmet az irodalom. Kilökődő cornealis allograftok eseteiben a corneában, a csarnokvízben és a szérumban mRNS, és fehérje szintek mérésével fokozott TNF- $\alpha$  expressziót írtak le. Ezzel ellentétben, mi a komplikáció/kilökődési reakció mentes esetek könnymintáihoz képest szignifikánsan alacsonyabb TNF- $\alpha$  koncentrációt mértünk azon betegek könnymintáiban, akiknél kilökődési reakció zajlott le. Ez elképzelhető, hogy a cornealis epithelialis és endothelialis sejtek TNF- $\alpha$  indukálta apoptosissá való érzékenységeinek köszönhető.

A cornealis graft antigénekkal szembeni immunitás indukciója a cornea transzplantatio után IL-12 és INF- $\gamma$ -függő mechanizmuson keresztül a drenáló nyirokcsomókon keresztül történik. Szignifikáns IL-12 mRNS up-regulációt mutattak ki kilökődő cornealis allograftok esetében patkányokban. Az IL-12p40 lokális felszabadulása eredményeképpen az aktivált T-sejtek infiltrációja és a Th1 citokinek felszabadulása gátlás alá kerül. Ezek a folyamatok fontos szerepet játszanak a cornealis graft rejectio folyamatában, azonban valószínű nem elégségesek a rejectio megelőzésében. Eredményeink szignifikánsan alacsonyabb IL-12p70 szintet igazoltak transzplantatum rejectiós áteső betegek könnyében, ha összehasonlítjuk a nem-komplikált esetekkel.

A különböző könnyminták legátfogóbb összehasonlítását a pro- és anti-inflammatoricus citokinek aránya jellemzi. A pro- és anti-inflammatoricus citokinek arányának eltolódása kilökődési reakcióhoz illetve csökkent cornealis graft toleranciához vezethet. Vizsgálatunk során a transzplantatum rejectio eseteiben észlelt alacsonyabb IL-10 és TNF- $\alpha$  valamint az emelkedett IL-6 és IL-8 szint maga után

vonta az IL-6/IL-10 és IL-8/IL-10 arány növekedését, valamint a TNF- $\alpha$ /IL-10 arány csökkenését.

Kapott eredményeink ellenére jelen vizsgálatunk limitációs faktorait a következőkben foglalnánk össze: 1) a könnygyűjtésbe bevont betegek alacsony száma, 2) néhány könnymintában az IL-10, IL-12 és TNF- $\alpha$  koncentrációja közel volt a kimutathatósági küszöbhez, ami nehezítette a pontos meghatározást, 3) az alkalmazott terápia nem volt egységes a komplikált és a komplikációmentes esetekben. Statisztikai analízisünk a szteroid kezelés zavaró hatását jelenleg nem igazolta. Az általunk vizsgált citokinek közül teljes biztonsággal egyik sem képes a rejectiót előre jelezni. További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy megtaláljuk azt a citokin kombinációt, amely valóban képes előre jelezni a PKP-t követő esetleges kilökődési reakciót. Jelen kísérleteink a vizsgálati és a diszkussziós nehézségek ellenére is az első lépések abba az irányba, hogy a szaruhártya-átültetést követő immunológiai célú könnyvizsgálatok hogyan segíthetnek a klinikai kép hosszú távú megítélésében, valamint a rejectió-s-preventív célú terápia kutatásában.

## **6. Az új eredmények összefoglalása**

I. Kimutattuk, hogy humán könnyben az IL-6 és az IL-8 release megnövekszik a szem elülső szegmentumát érintő, általunk vizsgált betegségek és postoperatív állapotok eseteiben. Ez a két interleukin érzékeny indikátora a különböző irritatív elülső szegmentum betegségeknek, külön hangsúlyozva a szaruhártya-átültetéseket.

II. A levett könnymintákból perforáló keratoplastica után 1 éven át hat citokin folyamatos jelenlétét tudtuk igazolni. A korai jelentős citokin válasz műtéti traumának, szöveti destrukciónak illetve a varróanyag irritáló hatásának tulajdonítható. Az eredmények a komplikációmentes szaruhártya-átültetéseket követő komplex immunológiai történésekre mutatnak rá.

III. Cornealis transplantatum rejectio esetén a könnyben mért emelkedett IL-6 és IL-8 és az ezzel együtt járó csökkent IL-10, TNF- $\alpha$  és IL-12p70 szint a szaruhártya átültetést követő graft rejectio indikátora lehet.

## 7. A tudományos eredmények hasznosíthatósága

A szaruhártya-átültetés a leggyakrabban végzett szövet-transzplantációk közé tartozik. Rettegett szövődményének, a kilökődési reakciónak az előfordulási gyakorisága mind a kedvező, mind a kedvezőtlen prognózisú eseteket tekintve az elmúlt évtizedekben lényegesen nem változott.

A citokinek könnyből történő kimutatása és koncentrációjukban történő változásának vizsgálata lehetőséget ad arra, hogy a graft rejectiót megelőző sejtközötti pathológiás kommunikációról adatokat kapjunk. Jelen humán könnyből történő vizsgálatunk eredményei kapcsán elsőként számolunk be a graft rejectiót jellemző komplex immunbiológiai folyamatokról. Ezzel az első lépést tettük abba az irányba, hogy a graft rejectiót megelőző specifikusan jellemző citokin secretióban bekövetkező változást idejében kimutathassuk. Ez a későbbiben alapja lehet a cornealis transzplantatum rejectio egyénre szabott, speciális kivédésének, terápiás beállításának lehetőségeire, nagymértékben szolgálva ezzel a betegek érdekeit.

## 8. Saját publikációk jegyzéke

### ***Az értekezéshez felhasznált közlemények***

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Bessenyei E., Kardos L., Berta A.: Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Res* 2006; 38: 182-188. **(IF:1.01)**
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. *Szemészet* 2007; 144: 61-64.
3. **Fodor M.**, Gogolák P., Rajnavölgyi É., Berta A., Kardos L., Módos L., Facskó A.: Long-term kinetics of cytokine responses in human tears after penetrating keratoplasty. *J Interferon Cytokine Res* 2009; 29: 375-380. **(IF:2.667)**
4. **Fodor M.**, Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Pro- és anti-inflammatorikus citokinek meghatározása perforáló keratoplasticán átesett betegek könnyéből. *Szemészet* 2009; 146: 49-52.

### ***Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok***

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségeiben. Szemészet 2003; 140(S):84.
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-8 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. Szemészet 2007; 144(S): 41-42.
3. **Fodor M.**, Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.: Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. Szemészet 2009; 146(S): 29-30.

### ***Poszterek***

1. **Fodor M.**, Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Facskó A., Berta A.: Detection of interleukin-6 in human tears in various anterior segment eye conditions. 2007.06.9-12. Joint Congress of European Society of Ophthalmology and American Academy of Ophthalmology (SOE/AAO); Bécs.
2. **Fodor M.**, Nagy V., Pfliegler Gy., Tornai I., Berta A.: Hepatitis C vírus okozta kétoldali NAION esete. 2008.05.29-31. Magyar Szemorvos Társaság Kongresszusa; Pécs.
3. **Fodor M.**, Nagy V., Pfliegler Gy., Tornai I., Berta A.: Hepatitis C vírus okozta kétoldali NAION esete. 2009.04.20. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen.

### ***Az értekezés témájához kapcsolódó előadások jegyzéke***

1. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.: Interleukin-6 meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségeiben, 2003.08.29. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa, Cornea szekció; Budapest.
2. **Fodor M.**, Facskó A., Rajnavölgyi É., Hársfalvi J., Berta A.: Humán könnyvizsgálatok protein assay segítségével, 2003.11.28. Továbbképző előadás, SOTE I; Budapest.

3. **Fodor M.:** Interleukinok (IL-6, IL-8) meghatározása humán könnymintákból különböző elülső szegmentum betegségeiben, 2004.04.29. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen.
4. **Fodor M., Berta A.:** IL-6 and IL-8 in various anterior segment eye diseases, 2004.10.15. Congress of the European Contact Lens Society of Ophthalmologists (ECLSO); Budapest.
5. **Fodor M., Facskó A., Rajnavölgyi É., Berta A.:** Interleukin-8 meghatározása humán könnyből a szem elülső szegmentumát érintő állapotokban. 2007.06.23. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa; Debrecen.
6. **Fodor M.:** Könny-citokinmeghatározások a szem elülső szegmentumának betegségeiben. 2009.04.20. DAB Szemklinikai előadások; Debrecen
7. **Fodor M., Berta A., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Facskó A.:** Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. 2009.06.26. Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa; Budapest.
8. **Fodor M.:** Citokinek vizsgálata könnyből perforáló keratoplastica után. 2009.06.29. DEOEC A klinikai orvostudományok doktori iskola 2009. évi Ph.D. szimpóziuma. Debrecen.

### ***Egyéb, az értekezéshez fel nem használt közlemények***

1. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Németh G., Berta A.: Tapasztalataink glaucomás szemeken végzett phacoemulsificatióval. Szemészet 2003; 140:136-138.
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperatív szakban nem glaucomás betegeken. Szemészet 2003; 140: 33-35.
3. **Fodor M.**, Berta A., Módis L.: A könnyfilm-beszáradási teszt szerepe a száraz szem diagnosztikájában. Szemészet 2007; 144: 191-195.
4. Módis L., **Fodor M.**, Berta A.: A conjunctivális impressziós citológia szerepe a száraz szem diagnózisában. Szemészet 2007; 144: 171-175.

5. **Fodor M.**, Nagy V., Berta A., Tornai I., Pfliegler G.: Hepatitis C virus presumably associated consecutive anterior ischemic optic neuropathy. Eur J Ophthalmol 2008; 18: 313-315. **(IF: 1.018)**
6. Módis L., Kettesy B., Szalai E., **Fodor M.**, Berta A.: Endothelialis keratoplasztikával szerzett tapasztalataink. Szemészet 2009; 146: 35-41.

### ***Egyéb idézhető absztraktok***

1. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Berta A.: Glaucomás betegeken végzett phacoemulsificatio során szerzett tapasztalataink. Szemészet 2002; 139(S):51.
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperatív szakban nem glaucomás betegeken. Szemészet 2002; 139(S):53.

### ***Egyéb előadások jegyzéke***

1. **Fodor M.**, Berta A., Módis L.: Morfológiai vizsgálómódszerek a szárazszeműség korszerű diagnosztikájában. 2002.01.25. Továbbképző előadás, SOTE I.; Budapest. (Pályamunka: A száraz szem magyarországi, 2004 évi kutatási pályázata: I. díj.)
2. **Fodor M.**, Tsorbatzoglou A., Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperatív szakban nem glaucomás betegeken. 2002.04.13. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.
3. Tsorbatzoglou A., **Fodor M.**, Vámosi P., Berta A.: Phacoemulsificatio hatására bekövetkezett szemnyomásváltozás a korai postoperatív szakban glaucomás betegeken. 2002.04.13. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.
4. **Fodor M.**: A száraz szem konzervatív terápiája III. A-vitamin. 2004.11.11. Továbbképző előadás, DEOEC Szemklinika; Debrecen.
5. **Fodor M.**, Németh G., Tornai I., Szalczer L., Dinya Z., Kenyeres A., Felszeghy Sz., Újvári T., Módis L., Berta A., Facskó A.: PCL csere transzparencia

csökkenés miatt. 2008.03.28. Magyar Műlencse Implantációs és Refraktív Sebészeti Társaság Kongresszusa (SHIOL); Keszthely.

6. **Fodor M.:** A ROP etiopathogenesise és terápiás lehetőségei. 2008.10.18. Továbbképző előadás, DEOEC Szemklinika; Debrecen.

### **Scientometriai paraméterek**

In extenso közlemények száma: 3

ebből elsőszerzős: 3

Összesített impact factor: **4,695**

Független idézettségek száma: 5