

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

KÖNNYBEN LÉVŐ MEDIÁTOROK VIZSGÁLATA CORNEALIS ECTASIÁKBAN

Dr. Pásztor Dorottya

Témavezető: Dr. Fodor Mariann, PhD



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2017

KÖNNYBEN LÉVŐ MEDIÁTOROK VIZSGÁLATA CORNEALIS ECTASIÁKBAN

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

Írta: Dr. Pásztor Dorottya okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Dr. Fodor Mariann, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Rácz Péter, az MTA doktora
Dr. Nagy Attila, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet könyvtára
2018. január 24. 11:00 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Griger Zoltán, PhD
Dr. Resch Miklós, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Rácz Péter, az MTA doktora
Dr. Griger Zoltán, PhD
Dr. Nagy Attila, PhD
Dr. Resch Miklós, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2018. január 24. (szerda) 13:00 óra

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ART Max: maximum Ambrósio-féle relációs vastagság (maximum Ambrósio's relational thickness)

Astig: cornealis asztigmatizmus

BAD-D: Belin-Ambrósio deviációs index (Belin-Ambrósio deviation index)

B.Ele.Th.: legvékonyabb ponton mért hátsó eleváció (back elevation at the thinnest location)

CCL5/RANTES: kemokin (C-Cmotif) ligand 5/ aktiváció által szabályozott normál T-sejt expresszált és szekretált citokin (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted)

CKI: centrális keratoconus index (central keratoconus index)

CXCL8/IL-8: C-X-C kemokin ligand 8/interleukin-8

CXCL10/IP-10: C-X-C kemokin ligand 10/ interferon gamma-indukált protein-10

F.Ele.Th.: legvékonyabb ponton mért elülső eleváció (front elevation at the thinnest location)

FFKC: forme fruste keratoconus (a keratoconus korai, enyhébb, atípusos formája)

IFN: interferon

IHA: magassági aszimmetria index (index of height asymmetry)

IHD: magassági decentrációs index (index of height decentration)

IL: interleukin

ISV: felszíni variancia index (index of surface variance)

IVA: vertikális aszimmetria index (index of vertical asymmetry)

K1: leglaposabb tengely mentén mért törőerő

K2: legmeredekebb tengely mentén mért törőerő

KC: keratoconus

KCS: szárazszem-betegség (keratoconjunctivitis sicca)

KI: keratoconus index

Kmax: maximális törőerő

MMP: mátrix-metalloproteináz

NGF: idegi növekedési faktor (nerve growth factor)

Pachy Apex: legkiboltosulóbb hely cornea vastagsága

Pachy Min: legvékonyabb cornea vastagság

Pachy Pupil: pupilla centrumában mért szaruhártya vastagság

PA: plazminogén aktivátor

PAI: plazminogén aktivátor inhibitor

PMD: pellucid marginális degeneráció (pellucid marginal degeneration)

PPI Ave: átlagos pachymetriás progresszió index (average pachymetric progression index)

PPI Max: maximum pachymetriás progresszió index (maximum pachymetric progression index)

PPI Min: minimum pachymetriás progresszió index (minimum pachymetric progression index)

Rmin: minimum rádiusz

SD: standard deviáció, szórás

TIMP-1: metalloproteináz-1 szöveti inhibitor (tissue inhibitor of metalloproteinase 1)

TNF: tumornekrozis-faktor (tumor necrosis factor)

tPA: szöveti plazminogén aktivátor (tissue plasminogen activator)

1. BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A **cornea ectaticus betegségei** népegészségügyi szempontból jelentősek. A **keratoconus (KC)** a leggyakoribb cornealis ectasia, mely esetében a cornea kúp alakot vesz fel, míg a **pellucid marginális degeneráció (PMD)** a cornealis ectasiák egy nagyon ritka formája, mely leggyakrabban a perifériás cornea alsó (atípusos esetekben a felső) részének elvékonyodásával jár. Jelenleg még nem ismert, hogy teljesen különböző betegségekről van-e szó, vagy ugyanannak a kórképnek a fenotípusos variációiról. A PMD kezdeti szakaszában a cornea alig tér el a normálistól, súlyos esetekben pedig előfordul, hogy nehéz elkülöníteni a KC-től. A PMD-t, a KC-val ellentétben, általában a későbbi (2-5.) évtizedekben ismerik fel. Fontos megemlíteni, hogy (a KC-től eltérően) a PMD-hez nem társul vascularisatio, illetve lipid – vagy vaslerakódás sem. Mivel a PMD és a KC időbeli megjelenése, progressziós rátája, valamint ezeknek megfelelően a kezelése is különböző, elkülönítésüknek klinikai jelentősége van, mivel a korrekt klasszifikáció a megfelelő terápia alapja.

Az elmúlt évtizedekben a cornealis képalkotás tovább fejlődött. Manapság a cornea elülső felszíne mellett már a hátsó felszínét is vizsgálni tudjuk pachymetriás (szaruhártya vastagság mérés) térképezéssel, mely lehetővé teszi a cornea szerkezetének 3D-s ábrázolását. Továbbá, Ambrósio és munkatársai számos indexet is kifejlesztettek, melyek elősegítik a cornealis ectasiák detektálását.

Klasszikusan a cornealis ectasiákat multifaktoriális, nem gyulladásos eredetű betegségekként tartjuk számon, azonban egy mostanában Galvis és kollégái által megjelentetett összefoglaló tanulmány felveti a gyulladásos faktorok lehetséges kulcsszerepét ezen kórképek patomechanizmusában. KC-s betegek könnyéből kimutatták az interleukin (IL)-1b, -4, -5, -6, -8, és -17; tumornekrózis-faktor (TNF)- α és - β ; interferon (IFN)- γ ; mátrix-metalloproteináz (MMP)-1, -3, -7, -9, és -13; katepszin B és a lipokalin-1 emelkedett szintjét. Az IL-4, -10, -12, és -13; TNF- α ; IFN- γ ; kemokin (C-C motif) ligand 5 (CCL5/RANTES, aktiváció által szabályozott normál T-sejt expresszált és szekretált citokin=regulated on activation, normal T cell expressed and secreted); lipofilin C és A; laktoferrin; α -fibrinogén; cink- α 2-glikoprotein; immunoglobulin A, immunoglobulin κ -lánc, polimer immunoglobulin receptor; foszfolipáz A2; cisztatin S, SN és SA csökkent szintjét a könnyben szintén leírták. Kenney és munkatársai kimutatták a

metalloproteináz-1 szöveti inhibitor (TIMP)-1 csökkent mennyiségét a KC-s corneákban, normál corneákkal összehasonlítva.

Ráadásul a KC és az asthma bronchiale közötti kapcsolatot már körülbelül 50 évvel ezelőtt leírták.

Csak néhány olyan korábbi tanulmány létezik, mely a könnyben lévő mediátorok (főként a citokinek) és a KC súlyossága közötti kapcsolatot vizsgálja. Lema és Durán 28 szemet analizált, Jun és munkatársai 18 pácienset vizsgáltak meg, Kolozsváriék kutatócsoportja pedig 14 KC-s szemet tanulmányozott. Egy nemrégiben megjelent cikkben Shetty és munkatársai megvizsgálták az MMP-9, IL-6, és a TNF- α , valamint a KC különböző stádiumai közötti asszociációt. Az említett tanulmányok fő limitációi a kis betegszám, a kevés vizsgált mediátor illetve a szubklinikai esetek vizsgálatának a hiánya voltak.

2. CÉLKITÚZÉSEK

- I. 11 mediátor [IL-6, -10, C-X-C kemokin ligand 8 (CXCL8)/IL-8, C-X-C kemokin ligand 10 (CXCL10)/ interferon gamma-indukált protein-10 (IP-10), CCL5/RANTES, MMP-9 és -13, TIMP-1, idegi növekedési faktor (NGF), szöveti plazminogén aktivátor (tPA) és plazminogén aktivátor inhibitor (PAI)-1] koncentrációjának meghatározása PMD-s, valamint hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal.
- II. Különféle mediátorok (IL-6, -10, CXCL8 /IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9 és-13, TIMP-1, tPA és PAI-1) könnyben lévő koncentrációja közötti asszociációk feltérképezése a KC-ban szenvedő páciensek teljes spektrumában (suspect, szubklinikai és manifeszt esetekben), valamint egészséges szemek esetében.
- III. Ezen mediátorok és a KC súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korreláció felfedése.
- IV. A Scheimpflug képző paraméterek és az asthma bronchiale KC-ban való előfordulása közötti kapcsolat felderítése.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Tanulmányaink során cornealis ectasiában szenvedő betegeket és egészségeseket vizsgáltunk a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szemklinikáján. A Helsinki Deklaráció elveinek megfelelően a bevonást megelőzően minden résztvevőtől a vizsgálatokba való írásos beleegyezést kértünk. A kutatás a helyi etikai bizottság jóváhagyásával valósult meg.

A PMD diagnózisát akkor mondtuk ki, ha Pentacammal (Pentacam HR, Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germany) és réslámpával is egyértelműen a limbushoz közeli elvékonyodás volt látható alul egy keskeny sávban, melyet a limbustól egy relatíve érintetlen 1-2 mm-es terület választott el. Az elvékonyodott terület felett kiboltosult a cornea, illetve ehhez kis törőerejű (lapos) függőleges meridián társult, valamint egy éles változás volt látható a görbületben vagy az alakban az elvékonyulás sávjában vagy közvetlenül felette. Az előzőekben ismertetetteken kívül nem volt semmilyen réslámpás jele sem (pl: vascularisatio, lipidlerakódás).

A KC diagnózisát akkor mondtuk ki, ha az alábbiak közül legalább egy jelen volt: réslámpás vizsgálat során a cornea stroma állományának centrális vagy paracentrális elvékonyodása, a cornea kónikus elődomborodása, Fleischer-gyűrű, Voght-striák; illetve topográfiás (törőerő térkép) eltérések. A cornealis ectasiák pontos diagnózisát Pentacam készülék tette lehetővé.

Minden résztvevő mindkét szemét megvizsgáltuk. Anamnézis felvétel (különös tekintettel az asztmára és a kontaktlencse használatra vonatkozóan) után meghatároztuk a nem korrigált és a legjobban korrigált távoli látásélességet, majd réslámpás biomikroszkópot (alacsony fényerősség mellett, a reflexes könnyezés elkerülésére), automata kerato-refraktométert (KR-8900; Topcon Co, Tokió, Japán), valamint Rotációs Scheimpflug készüléket (Pentacam HR) használtunk, s üvegapillárisok segítségével nem-stimulált könnyminta-vételt végeztünk.

Aktív gyulladásos, illetve fertőző általános, vagy szemészeti betegség, fennálló szisztémás, vagy lokális gyógyszeres kezelés, szemcseppek használata, a vizsgált szemén korábban végzett szemészeti műtét, mérsékelt és súlyos KCS (keratoconjunctivitis sicca), réslámpás vizsgálattal megállapított szemlencse vagy retinalis abnormalitás, vegyszer okozta sérülés, vagy zavart sebgyógyulás, valamint a vizsgálati időszak alatti terhesség, illetve szoptatás szerepeltek kizárási kritériumokként. Az allergiás tünetekre panaszkodó pácienseket, valamint a réslámpás vizsgálattal észlelhető szemészeti allergiás jelekkel rendelkezőket szintén kizártuk a vizsgálatból.

Minden résztvevőtől részletes anamnézist vettünk fel, s feljegyeztük a tünetmentes asztmát és tünetmentes dermatitist is. A kontaktlencse viselést legalább 2 héttel a mérések és a könnyminta-vétel előtt felfüggesztették a páciensek.

3.1. Betegcsoportok és klinikai vizsgálatok

3.1.1. Mediátorok koncentrációjának meghatározása pellucid marginális degenerációs, illetve hasonló súlyosságú keratoconusos betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal

Tanulmányunk során nem-stimulált könnymintát gyűjtöttünk 7 PMD-ben szenvedő beteg összesen 9 szeméből (átlagéletkor (SD): 46,4 (9,9) év férfi/nő arány: 3/4, korintervallum: 36-59 év) és 55 KC-s beteg 55 szeméből (átlagéletkor (SD): 44,2 (8,3) év, férfi/nő arány: 31/24, korintervallum: 29-61 év). Nem vontuk be a vizsgálatba a PMD-s páciensek másik szemét az ectasia definitív diagnózisa nélkül. A PMD ritkasága miatt, ha teljesültek a fentebb említett bevonási kritériumok, mindkét szemet bevettük a vizsgálatba. Kontrollként 24 egészséges ember 24 véletlenszerűen kiválasztott jobb vagy bal szeméből származó könnymintát használtunk fel (átlagéletkor (SD): 44,5 (10,6) év, korintervallum: 29-67 év). A KC-s páciensek akkor kerültek be a vizsgálatba, ha az alábbi három - a súlyossági paraméterek hasonlóságára vonatkozó - kritérium közül legalább egy teljesült rájuk. Ezek a feltételek: a páciens szaruhártyájának legmeredekebb tengely mentén mért törőerő (K2) értéke a PMD-s csoport átlagos K2 értéke $\pm 0,2$ D, a maximális törőerő (Kmax) értéke a PMD-s csoport átlagos Kmax értéke $\pm 0,8$ D, illetve a minimum rádiusz (Rmin) értéke a PMD-s csoport átlagos Rmin értéke $\pm 0,1$ mm. A bevonási procedúrát minden lehetséges kontroll és KC-s beteg esetén elvégeztük, akik a Szemklinikán elérhetőek voltak.

A topo- és tomográfiás paraméterek közül Microsoft Excel (Microsoft Corp, Redmond, Washington) táblázatba gyűjtöttük a következőket: a leglaposabb tengely mentén mért törőerő (K1), K2, Kmax, cornealis asztigmatizmus (Astig), Rmin, a legkiboltosulóbb hely és a legvékonyabb hely cornea vastagsága (Pachy Apex és Min), felszíni variancia index (ISV), vertikális aszimmetria index (IVA), keratoconus index (KI), centrális keratoconus index (CKI), magassági aszimmetria és decentrációs index (IHA és IHD).

3.1.2. Keratoconusos betegek könnyében lévő mediátorok közötti asszociációk, a Scheimpflug paraméterek és a mediátorok, valamint a Scheimpflug-paraméterek és az asthma bronchiale közötti korreláció vizsgálata

Valamennyi stádiumot felölelő [súlyos, mérsékelt és enyhe KC, szubklinikai KC vagy forme fruste keratoconus (FFKC)] KC-s beteget, valamint egészséges kontrollokat vizsgáltunk meg. A résztvevőket a KC stádiumbeosztása alapján kategorizáltuk (azonban az alcsoportok elemzése nem volt a vizsgálatunk célja). A KC-t a súlyosság szempontjából a következő stádiumokba soroltuk: enyhének minősült, ha a $K2 < 45$ dioptria (D), mérsékeltnek, ha a $K2$ 45 D és 52 D között, és súlyosnak, ha a $K2 > 52$ D volt. Jelenleg nincsenek általánosan elfogadott kritériumok a szubklinikai KC vagy FFKC kategorizálására. Vizsgálatainkban akkor nyilvánítottunk egy szemet szubklinikai KC-ban vagy FFKC-ban szenvedőnek, ha az alábbiak közül legalább egy teljesült: ha egy KC-s páciens másik szeméről volt szó, és réslámpával normál corneát észleltünk (súlyos esetekben keratoplasztika vagy CXL történt a KC-s szemén), vagy Pentacammal a Belin-Ambrósio deviációs index (BAD-D), a maximum Ambrósio-féle relációs vastagság (ART Max), az átlagos pachymetriás progresszió index (PPI Ave), vagy a legvékonyabb ponton mért hátsó eleváció (B.Ele.Th.) nem esett a Pentacam normál tartományába, vagy ahol a KC kritériumai nem teljesültek ugyan, de a $K_{max} > 47$ D volt.

Minden páciensnek csak az egyik, véletlenszerűen kiválasztott szemét vontuk bele a tanulmányba, bár mindkét szemet megvizsgáltuk. Összesen 69 beteg (átlagéletkor (SD): 30,7 (10,3) év, korintervallum: 13–68 év) vett részt a vizsgálatban. Közülük 25 páciens súlyos, 21 mérsékelt, 5 enyhe, 18 pedig szubklinikai KC diagnózissal. A betegek mellett kontrollként 19 egészséges embert (átlagéletkor (SD): 31,7 (11,5) év, korintervallum: 18–67 év) is bevontunk a vizsgálatba.

A topo- és tomográfias paraméterek közül a következőket gyűjtöttük Excel táblázatba: $K1$, $K2$, K_{max} , Astig, R_{min} , pupilla centrumában mért szaruhártya vastagság (Pachy Pupil), Pachy Apex és Min, ISV, IVA, KI, CKI, IHA, IHD, legvékonyabb ponton mért elülső eleváció (F.Ele.Th.), B.Ele.Th., minimum és maximum pachymetriás progresszió index (PPI Min és Max), PPI Ave, ART Max és BAD-D.

3.2. Könnygyűjtés és analízis

A könny minta-gyűjtés érzéstelenítő csepp és stimulálás alkalmazása nélkül steril üvegapillárisokkal, atraumatikusan az alsó könnymeniszkuszból történt. A levett könny mennyiségét kiszámoltuk és regisztráltuk. Minden felhasznált könny minta mennyisége minimum 4 µl volt. A mintavétel 2 percig tartott, majd a mintákat Eppendorf csövekbe juttattuk, és 15 percen belül, centrifugálás nélkül -80 °C-ra fagyasztottuk le. Multiplex mikrogyöngy mátrix (Cytometric Bead Array) technológia segítségével, áramlási citométerrel (FACS Array™ cytometer, BD Biosciences Immunocytometry Systems, San Jose, CA) mértük meg a könny mintákban lévő különböző mediátorok koncentrációját. Az áramlási citométeres mérésekhez az egyszerre mérhető proteineket összeválogattuk, és a megfelelő FlowCytomix™ Simplex Kit-eket használtuk, kombinációban a megfelelő FlowCytomix Basic Kit-tel, a gyártó (eBioscience, Bender MedSystems GmbH, Bécs, Ausztria) által javasolt felhasználási protokollon minimálisan módosítva. Az adatokat FlowCytomix Pro 2.3 szoftver segítségével értékeltük ki. A standard görbék a gyártó által szolgáltatott referencia citokin koncentrációk alapján szerkesztettük meg. A gyártó által megadott szenzitivitás: IL-6: 1,2 pg/ml, IL-10: 1,9 pg/ml, CCL5/RANTES: 25 pg/ml, CXCL8/IL-8: 0,5 pg/ml, CXCL10/IP-10: 6,0 pg/ml, MMP-9: 95 pg/ml, MMP-13: 50 pg/ml, TIMP-1: 28 pg/ml, NGF: 126,8 pg/ml, tPA: 4,8 pg/ml, PAI-1: 13,5 pg/ml.

3.3. Alkalmazott statisztikai módszerek

3.3.1. Minden KC-s páciensnek és egészséges kontrollnak csak egy szemét vontuk bele a vizsgálatba, hogy elkerüljük a szemek közötti korrelációból adódó torzítást. Ugyanakkor a PMD-s betegek mindkét szemét elemeztük, tekintettel a kórforma ritka mivoltára. Az alkalmazott statisztikai módszerek választásakor figyelembe vettük, hogy azonos betegen belül akár mindkét szemre vonatkozó adatok is jelen lehetnek. A változókat natív mérési skálájukon értelmezett átlag és szórás (SD) paraméterekkel jellemeztük.

A betegcsoportokat mediátor-koncentrációk és Scheimpflug kamerával mért keratometriás értékek (K1, K2, Kmax, Astig, Pachy Apex, Pachy Min, Rmin, KI, CKI, IHA, ISV, IVA, IHD) szempontjából vegyes hatásmodalitású hierarchikus lineáris regressziós modellezéssel hasonlítottuk össze. Minden kimenetelre külön modellt illesztettünk. Az elemzéshez a Stata

programcsomag 11-es számú verzióját használtuk. A szignifikancia kritériumát $\alpha=0,05$ -ben határoztuk meg.

3.3.2. A vizsgálatban résztvevőket a leíró statisztikához klinikai súlyosságuk alapján kategorizáltuk (ugyanakkor ez a beosztás nem volt az elemzés magyarázó változója). A mediátor koncentrációk eloszlásainak alakját megvizsgáltuk, és természetes alapú logaritmikus (a tPA és a PAI-1 esetében négyzetgyök) transzformáció segítségével javítottuk normalitásukat. Hasonló módon a Pentacamos paramétereket is e transzformációk valamelyikének vetettük alá, ha ez javította az eloszlás szimmetriáját.

A Pentacamos paramétereket egy összetett indexben, az úgynevezett Standardizált Pentacam Score-ban egyesítettük. Ezt az egyesítendő változók centralizálása, standardizálása és – szükség esetén – előjel-korrekciója (hogyan a magasabb értékek mindig súlyosabb patológiát képviseljenek), majd főkomponens-analízise (az első főkomponens származtatása) segítségével kalkuláltuk.

Az összes lehetséges mediátorszint-pár közötti korrelációt, valamint a Scheimpflug paraméterek és a könnyben lévő mediátorok közötti asszociációt egyszerű lineáris regresszió segítségével értékeltük (indokolt esetben a magyarázó változót négyzetre emelt formában is szerepeltetve). A mediátorpárok és a Standardizált Pentacam Score közötti kapcsolatot többszörös lineáris regressziós analízis segítségével tártuk fel életkorra, az asztma jelenlétére és kontaktlencse használatra korrigálva. A mediátor változókat lineáris és négyzetes formában szerepeltettük, s a közöttük lévő interakció származtatott tényezőit is alkalmaztuk, ha ezzel a modell jobban tudta követni a kimeneteli tér görbületeit. Az összefüggést a mediátor párok kombinált hatásának szignifikanciája, valamint a Standardizált Pentacam Score-nak a mediátor párok minta által lefedett koncentrációi által meghatározott helyeken becsült, egy alkalmas kijelölt referenciaponthoz képest értelmezett additív eltérései formájában fejeztük ki.

4. EREDMÉNYEK

4.1. *Mediátorok koncentrációjának meghatározása pellucid marginális degenerációs, illetve hasonló súlyosságú keratoconusos betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal*

A PMD-s és KC-s betegek, valamint az egészséges kontrollok [PMD (SD)/ KC (SD)/ Kontroll (SD)] Pentacam paramétereinek átlagos értékei a következők: K1 (D): 42,4 (5,6)/ 45,6 (4,0)/ 43,4 (1,4); K2 (D): 49,1 (4,0)/ 49,3 (4,1)/ 44,3 (1,6); Kmax (D): 55,2 (7,2)/ 54,4 (5,4)/ 44,8 (1,6); Astig (D): 6,7 (2,9)/ 3,7 (1,9)/ 0,9 (0,6); Rmin (mm): 6,2 (0,8)/ 6,3 (0,6)/ 7,6 (0,3); Pachy Apex (μm): 502 (47)/ 486 (49)/ 551 (32); Pachy Min (μm): 489 (45)/ 468 (51)/ 545 (33); ISV: 97,9 (45,6)/ 80,8 (31,3)/ 15,1 (4,4); IVA: 1,04 (0,51)/ 0,86 (0,42)/ 0,11 (0,04); KI: 1,24 (0,23)/ 1,21 (0,12)/ 1,02 (0,02); CKI: 1,01 (0,34)/ 1,04 (0,04)/ 1,00 (0,01); IHA: 17,8 (11,5)/ 23,3 (19,7)/ 3,8 (2,4); IHD: 0,12 (0,08)/ 0,08 (0,05)/ 0,01 (0,00).

A Pentacam paraméterek közötti különbségek a különböző csoportok között a következők: **PMD v. Kontroll:** K1: p=0,312, Astig: p<0,0001, K2, Kmax, Rmin, Pachy Apex, Pachy Min, ISV, IVA, KI: p<0,0048, CKI: p=0,834, IHD: p<0,0001, IHA: p=0,0465; **KC v. Kontroll:** K1: p=0,01, Astig: p<0,0001, K2, Kmax, Rmin, Pachy Apex, Pachy Min, ISV, IVA, KI: p<0,0001, CKI: p<0,0001, IHD: p<0,0001, IHA: p<0,0001; **PMD v. KC:** K1: p=0,006, Astig: p<0,0001, K2, Kmax, Rmin, Pachy Apex, Pachy Min, ISV, IVA, KI: p≥0,0814, CKI: p=0,004, IHD: p=0,038, IHA: p=0,224.

Olyan KC-s beteget vontunk bele a vizsgálatba, akik hasonlóak voltak a PMD-s páciensekhez az életkorukat, illetve betegségük súlyosságát (K2, Kmax, Rmin) tekintve, mely megmagyarázza a szignifikáns különbségek hiányát a K2, Kmax, és Rmin, valamint a Pachy Apex, Pachy Min, ISV, IVA, KI és IHA tekintetében.

Az átlagos mediátor koncentrációk (SD) a betegek és egészséges kontrollok könnyében [PMD (SD)/ KC (SD)/ Kontroll (SD)] a következők voltak: IL-6 (pg/ml): 213 (251,2)/ 160,2 (265,7)/ 217,1 (172,2); IL-10 (pg/ml): 43,06 (129,2)/ 280,3 (832,8)/ 625,1 (708,2); CCL5/RANTES (pg/ml): 636,5 (731,2)/ 412,5 (542,1)/ 218,8 (194,1); CXCL8/IL-8 (pg/ml): 1719 (905,8)/ 2231 (2857)/ 4026 (2681); CXCL10/IP-10 (pg/ml): 96,9 (72,4)/ 91,9 (87,3)/ 124,7 (123,3); MMP-9 (ng/ml): 170,8 (294,7)/ 51,3 (131,9)/ 36,7 (61,5); MMP-13 (ng/ml): 0,371 (1,1)/ 36,6 (88,0)/ 96,7 (77,1); TIMP-1

(ng/ml): 69,7 (174)/ 127,1 (251,7)/ 160,9 (164,6); tPA (pg/ml): 960 (1023)/ 4066 (8545)/ 7304 (5737); PAI-1 (ng/ml): 2,21 (2,3)/ 2,08 (2,6)/ 2,16 (2,1); NGF (pg/ml): 4603 (2823)/ 4523 (4266)/ 3160 (2584).

A könnyben lévő mediátor koncentrációk különbsége az egyes csoportok között a következő volt: **PMD v. Kontroll:** IL-8: $p=0,031$, MMP-9: $p=0,004$, MMP-13: $p=0,004$, tPA: $p=0,031$; **KC v. Kontroll:** IL-8: $p=0,011$, MMP-9: $p=0,655$, MMP-13: $p=0,004$, tPA: $p=0,094$; **PMD v. KC:** IL-8: $p=0,479$, MMP-9: $p=0,005$, MMP-13: $p=0,198$, tPA: $p=0,226$.

Az MMP-9 volt az egyetlen olyan mediátor, mely szignifikánsan eltért a két ectaticus betegcsoport között ($p=0,005$). Habár nem találtunk nyilvánvalóan releváns különbségeket a magas standard deviációk (SD) miatt, az IL-10 (mely egy anti-inflammatórikus citokin) 14x alacsonyabb volt PMD-ben mint a kontrollcsoportban, és 7x kevesebb mint KC-ban. Ráadásul, a T-sejtekre, eozinofilekre, és bazofilekre is kemotaktikus hatású CCL5, mely szerepet játszik a leukocyták gyulladás helyére való toborzásában, PMD-ben mutatta a legmagasabb értéket a másik két csoporttal összehasonlítva. Ezzel összhangban a TIMP-1, az egyik legfontosabb MMP-inhibitor szintje volt a legalacsonyabb PMD-ben a KC-s és a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Az MMP-9 és a TIMP-1 aránya 2,45 volt a PMD-s, 0,4 a KC-s és 0,23 a kontrollcsoportban. Ellentétben ezekkel az eredményekkel az MMP-13, az IL-8 és a tPA a PMD-s csoportban volt a legalacsonyabb.

4.2. Mediátorok könnyben lévő koncentrációja közötti asszociációk feltérképezése a keratoconusban szenvedő páciensek teljes spektrumában (suspect, szubklinikai és manifest esetekben), illetve egészséges szemek esetében

Számos szignifikánsan pozitív asszociációt találtunk a mediátorkoncentráció párok között a KC-s betegektől és az egészséges kontrolloktól gyűjtött könnymintákban: IL-6 és IL-10, CXCL8, CCL5, MMP-13, TIMP-1, tPA, PAI-1: $p<0,0001$; IL-6 és MMP-9: $p=0,0203$; IL-10 és CXCL8, CCL5, MMP-13, tPA, PAI-1: $p<0,0001$; CXCL8 és CCL5, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA, PAI-1: $p<0,0001$; CCL5 és MMP-13, tPA, PAI-1: $p<0,0001$; MMP-9 és TIMP-1, tPA: $p<0,0001$; MMP-13 és TIMP-1, tPA, PAI-1: $p\leq 0,0001$; TIMP-1 és tPA, PAI-1: $p<0,0001$; tPA és PAI-1: $p<0,0001$.

4.3. Keratoconusos betegek könnyében lévő mediátorok és a keratoconus súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korrelációk

Szignifikáns pozitív asszociációkat találtunk a BAD-D és a CXCL8 ($p=0,020$), a BAD-D és az MMP-9 ($p=0,005$), valamint a K2 és az MMP-9 ($p=0,031$) között. Szignifikáns negatív asszociációkat fedeztünk fel a Pachy Min és a CXCL8 ($p=0,027$), valamint a Pachy Min és a tPA ($p=0,023$) között.

4.4 A mediátorpárok és a standardizált Pentacam Score (a különböző Pentacam értékek alapján kalkulált összetett paraméter) között talált asszociációk

Szignifikáns asszociációt észleltünk a TIMP-1 koncentráció, az MMP-13 koncentráció és a Standardizált Pentacam Score között: magas TIMP-1 és alacsony MMP-13 szint kombinációja esetén alacsony score-t, míg mindkét mediátor emelkedett koncentrációjánál, valamint alacsony TIMP-1 és mérsékelt MMP-13 szint esetén emelkedett score-t találtunk. Szignifikáns korrelációt fedeztünk fel számos mediátorpár koncentrációja és a Standardizált Pentacam Score között: CXCL8 és IL-6: $p=0,014$, CXCL8 és CCL5: $p=0,028$, CXCL8 és tPA: $p=0,024$; CCL5 és tPA: $p=0,026$; MMP-9 és CCL5: $p=0,04$, MMP-9 és TIMP-1: $p=0,001$; MMP-13 és TIMP-1: $p=0,043$; tPA és TIMP-1: $p=0,014$; PAI-1 és tPA: $p=0,02$.

4.5. Az asztma hatása a Standardizált Pentacam Score-ra

Öt páciens (7,25%) esetén asztma, 15 betegnél (21,74%) pedig kontaktlencse használat szerepelt az anamnézisben. Az életkorra és a kontaktlencse használatra korrigált lineáris regresszióval erős, szignifikáns pozitív asszociációt észleltünk az asztma és a Standardizált Pentacam Score között. Az asztmás páciensek score-ja átlagosan 5,7 egységgel (95%-os konfidencia-intervallum: 2,0-9,4, $p=0,003$), – azaz 1,32 szórásnyi mértékben – volt magasabb, mint a nem asztmás betegeké.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Mediátorok koncentrációjának meghatározása PMD-s, illetve hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal

Legjobb tudomásunk szerint ez az első olyan tanulmány, mely a PMD és a KC közötti biokémiai különbségek feltárását célozza meg. A leggyakoribb ectaticus cornealis betegség a KC, és bár a PMD sokkal ritkább, de nem kevésbé fontos. A két entitás prognózisa és kezelése lényegesen különbözik, ezért elkülönítésüknek klinikai jelentősége van. Abban az esetben, ha a könnyfilmben lévő biomarkerek segítségével külön tudnánk választani a két betegséget, ez a noninvazív eljárás egyszerűen segíthetné a gyors és pontos diagnózist. Néhány szerző úgy véli, hogy a PMD, a KC és a keratoglobus ugyanannak a patofiziológiának a spektrumához tartozó betegségek, s nem szeparált kórképek, azonban ezzel szemben jelen tanulmányunk eredményei alapján a PMD és a KC különböző entitásoknak tűnnek, nem pedig ugyanazon betegség fenotípusos variációinak.

Tanulmányunkban különböző könnyben lévő mediátorok koncentrációját vizsgáltuk meg. Az MMP-k részt vesznek az extracelluláris mátrix degradációjában és remodellingjében. A PMD-s és a KC-s betegek könnyében lévő emelkedett MMP-9 szint a szöveti degeneratív folyamat részvételét jelzi a szaruhártya vékonyodásában. Jelen tanulmányunkban ez a mediátor volt az egyetlen, mely szignifikánsan különbözött a két pácienscsoport között ($p=0,005$). A két betegcsoport között a szignifikánsan eltérő MMP-9 szint talán értékes segítség lehet majd a háttérben álló patológiás szöveti-degradációs folyamat felderítésében.

Korábbi tanulmányok emelkedett MMP-1, -3, -7, -9 és -13 szintet írtak le a KC-s betegek könnyében. A szemfelszíni gyulladást proteázok – például az MMP-9 – aktiválják, és kutatásunk alapján ez a mediátor segíthet a KC és a PMD elkülönítésében. Az MMP-k és a citokinek egymással kölcsönhatásba lépve komplex hálózatot képeznek, beleértve például az MMP-9 és MMP-13 IL-6 általi stimulációját. Erősen expresszált MMP-13 szintet írtak le KC-ban, felvetve ezzel az intra – és extracelluláris patológiás kollagén destrukció szerepét. Ezzel ellentétben vizsgálatunkban az MMP-13 koncentrációja alacsonyabb volt mindkét cornealis ectasiában ($p=0,004$). S bár a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns, a PMD-sek MMP-13 koncentrációja alacsonyabb

volt, mint a KC-s betegeké, mely eredmény megerősítésére további vizsgálatok szükségesek az enzimaktivitás és a degradatív folyamatok kaszkárendszerének bonyolultsága miatt.

A tPA aktív formája katalizálja a plazminogén - plazmin átalakulást, mely részt vesz az extracelluláris mátrix komponenseinek lebontásában, valamint képes az MMP-k aktiválására is. Az MMP-k és a plazminogén aktivátorok (PA-k) szabályozását részben a TIMP-ek és a PAI-k végzik a kaszkád rendszer gátlásán keresztül, és így befolyásolják a cornealis ectasiák progresszióját. PMD-ben a tPA-t eddig még nem vizsgálták, azonban többen is emelkedett (de nem szignifikáns) szintjét írták le KC-ban. A PAI-1 gátolja a tPA enzim aktív formáját. Érdekes módon kutatásunk során a tPA koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt PMD-seknél a kontrollcsoporthoz viszonyítva, míg a PAI-1 koncentrációt mindhárom csoportban hasonlóan találtuk, mely eredmény felveti más enzimek lehetséges szerepét a háttérben álló molekuláris mechanizmusban, és valószínűleg azt is jelenti, hogy az aktuális enzimaktivitás befolyásolja a végső hatást a cornealis ectasiákban megjelenő szöveti degradációban.

A TIMP-ek a különböző MMP-k természetes inhibitorai, és számos ellentmondó tanulmány jelent meg a TIMP-1 expresszójáról a KC-s corneákban. Jelen vizsgálatunkban, a TIMP-1 (az egyik legfontosabb MMP inhibitor) a PMD-s csoportban volt a legalacsonyabb a KC-s és a kontrollcsoporthoz viszonyítva, mely csökkent aktivitás hatással lehet a szöveti degenerációra. Az MMP-9 és a TIMP-1 egyensúlyát is megvizsgáltuk: az MMP-9 és a TIMP-1 aránya 2,45 volt a PMD-s, 0,4 a KC-s és 0,23 a kontrollcsoportban, mely kifejezettebb szöveti degenerációra utal PMD-ben, mint KC-ban. További tanulmányok szükségesek a MMP-k és a TIMP-ek, valamint az IL-ek, főleg az IL-10, aktív kölcsönhatásának megerősítésére és részleteinek felkutatására.

A KC-t klasszikusan a szaruhártya nem gyulladásos betegségeként tartjuk számon, azonban egyre nő azon tanulmányok száma, melyek számos citokin fokozott jelenlétét (over-expresszióját) mutatják be ebben a cornealis ectasiában. Így a KC klasszikus, nem gyulladásos besorolása manapság talán már nem helyénvaló. Ellentétben ezekkel a korábbi eredményekkel, melyeket fiatal KC-s pácienseknél írtak le, a mi kutatásunkban az IL-6 szintje az ectaticus betegségben szenvedők és a kontrollcsoport könnyében nem különbözött szignifikánsan. Ráadásul a gyulladásos szemészeti betegségekben is a KC-hoz hasonló emelkedett citokinszinteket írtak le (Balasubramanian, 2012; Fodor, 2013), azonban a CXCL8, mely a könnyben normálisan

predomináns kemoattraktánsként van jelen, a mi tanulmányunkban szignifikánsan alacsonyabb volt mind a PMD-s, mind a KC-s csoportban a kontrollokhoz viszonyítva. Vizsgálataink során azt találtuk, hogy a CCL5, mely kemokinként hat a T-sejtekre és az eozinofil, valamint a bazofil granulocytákra, és aktív szerepet játszik a leukocyták gyulladás helyére való toborzásában is, a PMD-seknél volt a legmagasabb a másik két csoporthoz viszonyítva. Kutatásunkban mindkét ectasiában magasabb CCL5 koncentrációt találtunk (bár eredményünk a nagy SD-k miatt nem volt szignifikáns), mint a normál szaruhártyáknál. Ezen eredményeink ellentétesek a Jun és munkatársai által közöltekkel. További tanulmányok szükségesek az IL-6, CXCL8 és a CCL5 cornealis ectasiák patomechanizmusában, valamint a PMD-ben és KC-ban bekövetkező szöveti károsodásban betöltött szerepének vizsgálatára. Az anti-inflammatórikus IL-10-et 14x alacsonyabbnak találtuk PMD-ben, mint a kontrollcsoportban, és 7x alacsonyabbnak, mint KC-ban (bár ez az eredmény sem volt szignifikáns). Ez az eredmény alátámasztja azt a feltevést, hogy a citokinek és a kemokinek fontos szerepet játszanak a cornealis ectasiák patomechanizmusában. Az IP-10/CXCL10 egy makrofágok, endothelsejtek és fibroblasztok által termelt fibrotikus és angiosztatikus hatású kemokin, mely vizsgálatunkban nem különbözött szignifikánsan a csoportok között. Megfigyeléseink alátámasztják azt a tényt, hogy a szaruhártya KC-ban érmentes, és a hegesedés csak a súlyos stádiumban jelenik meg, mely jelen vizsgálatunkban csak 11% volt. Azt feltételezik, hogy a cornealis beidegzés károsodása szerepet játszik a KC patogenezisében, és az NGF expresszió szignifikáns csökkenése a KC-s corneákban az NGF jelátviteli út károsodása miatt jön létre. NGF esetén vizsgálatunk során, a korábbi tanulmányokkal ellentétben, sem a csoportok között, sem pedig a KC súlyossága és az NGF szint között nem kaptunk szignifikáns eltérést.

Vizsgálatunk limitációja a PMD-s csoport kis létszáma; a beválogatott betegek relatíve idősebb kora (az átlagéletkor >44 év) és a többi korosztály hiánya. Azonban, mivel a PMD egy igen ritka betegség, így az összegyűjtött hét beteg is jelentősnek tekinthető, és arányosan reprezentált az ectaticus betegpopulációnkban. Mivel a PMD okozta tünetek általában a középkorúaknál manifesztálódnak, ezért válogattuk össze hozzájuk a relatíve idősebb korosztályú KC-s betegeket. Így összehasonlíthattuk a PMD-s és a KC-s pácienseket egy idősebb életkorban, amikor a KC kevésbé progresszív. Mindezek mellett a vizsgálat nem terjedt ki a progresszió vizsgálatára, mely minden bizonnyal hatással van a könnyben mérhető mediátorok szintjére és fordítva. Ezt

különösen abból a szempontból lenne érdekes vizsgálni, hogy a KC a vizsgált betegek életkorában már csak igen ritkán progresszív, míg a PMD-nél ez nagyobb eséllyel fordul elő. Kíváncsún lenne korai stádiumú fiatalabb PMD-s pácienseket is bevonni a vizsgálatba, mivel a betegség progressziójának a lehetősége a mediátor szintek megváltozásával járhat együtt.

Tanulmányunk más inflammatórikus mediátorok cornealis ectasiákban betöltött lehetséges patofiziológiai szerepét nem zárja ki, valamint a könnyben vizsgált mediátorok forrásának, aktivitásának, és a mediátorok különböző receptorokon való expressziójának felmérésére sem terjedt ki. Bár kimutattuk, hogy a mediátorok biokémiai különbséget tárnak fel a KC és a PMD között, azonban az még továbbra sem tisztázott, hogy mely fehérjék segíthetnének az ectasiák nem progresszív és progresszív formájának (mely esetben a korai terápia nagyon fontos lenne) elkülönítésében.

A könny a cornealis ectasiák molekuláris mechanizmusának megértésében nélkülözhetetlen, és a multiplex plate-ek ideálisak a kis volumenű könnymintákból való biomarkerek detektálására. További nagyobb mintaszámú kutatások szükségesek eredményeink megerősítéséhez, és az MMP-9 fontosságának bizonyításához.

Összességében elmondható: tanulmányunk rámutat arra, hogy PMD-ben és KC-ban is több mediátor szintje megváltozik a könnyben, és ezen változások talán segíthetnek a két entitás elkülönítésében. Mindezek miatt szükséges az általunk vizsgált, és egyéb mediátorok pontos szerepének jövőbeli felderítése.

5.2. Keratoconusos betegek könnyében lévő mediátorok közötti asszociációk, a Scheimpflug paraméterek és a mediátorok, valamint a Scheimpflug-paraméterek és az asthma bronchiale közötti korreláció vizsgálata

Legjobb tudásunk szerint, ez az első olyan tanulmány, mely a mediátorpárok és a Pentacam segítségével megállapított KC súlyosság közötti asszociációkat elemzi. Az intenzív klinikai és biokémiai kutatások ellenére a KC patogenezise még nem ismert részleteiben. Hagyományosan a KC-t nem gyulladásos eredetű betegségnek tartották, azonban a mostanában megjelent tanulmányok a gyulladás jelenlétét igazolják a KC patogenezisében. Csak néhány olyan korábbi tanulmány létezik, mely a könnyben lévő citokinek és a KC súlyossága közötti kapcsolatot

vizsgálja. Az említett vizsgálatok fő limitációi a kis betegszám, a kevés vizsgált mediátor illetve a szubklinikai esetek vizsgálatának hiánya.

Tanulmányunkban könnyben lévő mediátorok közötti asszociációkat határoztunk meg a KC-s betegek teljes spektrumában (a szubklinikaitól a manifeszt, súlyos esetekig). A korábbi kutatásokkal összhangban igazoltuk, hogy a különböző könnyben található mediátorok – citokinek, kemokinek, enzimek és inhibitorok – együttműködnek és egy komplex immunológiai hálózatot képeznek. Szignifikáns asszociációkat fedeztünk fel a különböző mediátorok koncentrációi és a Standardizált Pentacam Score (általunk generált összetett index, mely statisztikailag egyesít minden Pentacam paramétert) között. Legjobb tudásunk szerint a korábbi tanulmányok nem vizsgálták a különböző könnyben lévő mediátorok és a Pachy Min, valamint a BAD-D (az elülső és a hátsó cornealis eleváció, valamint a pachymetriás értékelés alapján kalkulálja a készülék) közötti asszociációkat. Eredményeink alátámasztják a különféle mediátorok komplex hálózata és az átfogó Pentacam indexek közötti kapcsolatot. Kutatásunk alapján, a gyulladás nemcsak hogy részt vesz a KC patomechanizmusában, hanem kulcsszereppel bír a cornealis folyamat patológiájában a kezdetitől a végstádiumig. Csak néhány szignifikáns asszociációt találtunk az egyes mediátorok és a Pentacam indexek között, kiemelve ezzel annak a ténynek a jelentőségét, hogy a mediátorok, például a citokinek, egy komplex kaszkádban vesznek részt. A vizsgált mediátorok hatása átfed, néhol fokozzák, máshol semlegesítik egymás hatását. Ez összhangban van azzal, hogy a különféle, szérumban lévő, többcélpontú mediátorok együttműködnek a különböző betegségekben. Ez arra utal, hogy csak egy vagy néhány mediátor vizsgálata nem elég, hogy a komplex immunpatológiai folyamatot felfedje.

A TIMP-1 az MMP-k inhibitora, mely megakadályozza a pro-MMP aktivációt és antiapoptotikus tulajdonsággal is rendelkezik. Az MMP-13 jelenlétét KC-ban már korábban leírták. Ráadásul a TIMP-1 részlegesen gátolja a pro-MMP-13 aktivációt. Ezekkel a tanulmányokkal összhangban szignifikáns asszociációkat találtunk a TIMP-1 koncentráció, az MMP-13 koncentráció és a Standardizált Pentacam Score között. A magas TIMP-1 és az alacsony MMP-13 szintek kombinációját alacsony score, míg mindkét mediátor emelkedett szintjeit, csakúgy, mint az alacsony TIMP-1 koncentráció és a mérsékelt MMP-13 szint kombinációját magas score

jellemzi. Ráadásul szignifikáns pozitív asszociációkat találtunk az MMP-9 és a BAD-D, valamint az MMP-9 és a K2 között.

Vizsgálataink és más tanulmányok alapján a humán cornea kollagenolitikus miliója komplexebb, mint várnánk. További kutatások szükségesek a kollagenázok és inhibitorainak pontos hatásának megértéséhez. Számos kölcsönhatást megfigyeltek a fibrinolitikus és az MMP rendszer között a proteolitikus aktivációban. A PA-kat részben a PAI-k szabályozzák, melyek gátolják ezt a kaszkád rendszert, és így befolyásolják a KC progresszióját. Különböző növekedési faktorok és citokinek indukálják a PAI-1 gént és gátolják a tPA enzim aktivitását. Ráadásul, a PA-k hatással lehetnek a növekedési faktorok proteolitikus inaktivációjára is. Vizsgálataink során szignifikáns asszociációt találtunk a KC súlyossága és a tPA/TIMP-1, illetve a tPA/PAI-1 mediátor-párok között. Ráadásul szignifikáns negatív asszociációkat fedeztünk fel a legvékonyabb ponton mért szaruhártya vastagság és a tPA között. A proteolitikus és fibrinolitikus rendszer elemein kívül megvizsgáltunk különböző citokineket is, például a proinflammatorikus IL-6-ot, a kemokin CXCL8/IL-8-at, valamint az anti-inflammatorikus IL-10-et. Eredményeink azt mutatják, hogy ezek a citokinek egymással együttműködnek és kulcsfontosságú szerepet játszanak a KC patogenezisében. A kutatásunk során talált szignifikáns pozitív asszociáció a BAD-D és a CXCL8 között, valamint a szignifikáns negatív korreláció a Pachy Min és a CXCL8 között kiemelik a kemokinek szerepét.

Az asthma bronchiale a légutak krónikus gyulladásos megbetegedése. Az eozinofilok, mastocyták és T-lymphocyták infiltrációja, valamint számos gyulladásos mediátor felszabadulása fontos szerepet játszik az asztma patogenezisében. Ezeknek a betegeknek a szérumában többféle fehérje szintje is megváltozik, például az IgE, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8 és IL-13; továbbá a CCL5; TNF α ; MMP-9; TIMP-1; tPA; és a szérum Angiopoietin-1 szintje. A különféle mediátorok egyre nagyobb számban való megismerésével további gyulladáscsökkentő terápiás lehetőségek válnak elérhetővé az asztma terápiájában. Az asztma és más atópiás betegségek, valamint a KC kapcsolatát először ötven évvel ezelőtt publikálták, s azóta számos alkalommal megerősítették. Erős szignifikáns pozitív asszociációt találtunk az asztma és a KC súlyossága között, vagyis az asztmás betegekben 5,7x magasabb score-t észleltünk, mint a nem asztmás pácienseknél. Vizsgálataink alapján az asthma bronchiale hatással van a KC súlyosságára. Ez bár csak egy

másodlagos eredménye tanulmányunknak, azonban megerősíti az asztma és a KC kapcsolatával kapcsolatos korábbi hipotéziseket. További prospektív tanulmányok szükségesek, melyek megvizsgálják az asztma szisztémás terápiájának a KC patomechanizmusára kifejtett hatását.

Tanulmányunk erőssége a résztvevők jelentős száma (88 fő), valamint a sokféle könnyben lévő mediátor vizsgálata, melyek asszociációját is vizsgáltuk a Pentacamos paraméterekkel. Kutatásunk limitációi, hogy nem vizsgáltuk az enzimaktivitásokat, a KC aktuális progresszióját és az asztma különböző kezeléseinek hatását. Ráadásul tanulmányunk nem zárja ki más gyulladásos molekulák szerepét a KC patofiziológiájában. Érdekes lenne több különféle mediátort lemérni, de ezek meghatározása a későbbi kutatásokra marad. Azonban eredményeink számos új korrelációt tárnak fel, melyek a jövőbeli vizsgálatok alapjai lehetnek. A következő lépés ezen mediátorok pontos szerepének meghatározása, a KC progressziójának vizsgálata, valamint egyéb mediátorok szerepének feltárása. Ezen tanulmányok a későbbiekben alapul szolgálhatnak a patológiás cornealis elvékonyodás helyi gátlásának célpontjának megtalálásához, vagy a végleges terápiához.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

- I. Kutatásunk a PMD és a KC közötti biokémiai különbségek feltárását célozta meg. Tanulmányunk szignifikáns különbséget talált a vizsgált két cornealis ectasia között a könnyben lévő MMP-9 szintben
- II. Számos szignifikánsan pozitív asszociációt figyeltünk meg a mediátor-koncentráció párok között a KC-s betegektől és az egészséges kontrolloktól gyűjtött könnymintákban.
- III. Tanulmányunk a mediátorpárok és a Pentacam segítségével megállapított KC súlyosság közötti asszociációkat is elemzi. Szignifikáns pozitív asszociációkat találtunk a BAD-D és a CXCL8, a BAD-D és az MMP-9, valamint a K2 és az MMP-9 között. Szignifikáns negatív asszociációkat fedeztünk fel a Pachy Min és a CXCL8, valamint a Pachy Min és a tPA között.
- IV. Szignifikáns korrelációt fedeztünk fel számos mediátorpár koncentrációja és a Standardizált Pentacam Score között.

- V. Erős, szignifikáns pozitív asszociációt észleltünk az asztma és a Standardizált Pentacam Score között. (Vizsgálataink megerősítik az asthma bronchiale KC-ra gyakorolt hatását.)

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A cornea ectaticus betegségeinek népegészségügyi jelentőségük van. Ezen kórképeket a cornea szerkezetének progresszív deformációja és elvékonyodása jellemzi. A pellucid marginális degeneráció (PMD) nagyon ritka, a perifériás cornea alsó részének elvékonyodásával járó kórkép, míg a leggyakoribb cornealis ectasia, a keratoconus (KC) esetében a szaruhártya jellegzetesen kúpszerű alakot vesz fel. Nem ismert pontosan, hogy teljesen különböző betegségekről van-e szó, vagy ugyanannak a kórképnek a fenotípusos variációiról. Klasszikusan a coneális ectasiákat nem gyulladásos eredetű betegségeknek tartjuk számon, azonban a mostanában megjelent tanulmányok felvetik a gyulladásos faktorok kulcsszerepét. A KC-s betegek könnyében előforduló biomarkereket korábbi tanulmányok már tanulmányozták, azonban PMD-ben még nem történtek ilyen vizsgálatok.

Számos mediátor (IL-6, IL-10, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, NGF, tPA és PAI-1) koncentrációjának meghatározását tűztük ki célul PMD-s, valamint KC-s betegek könnymintáiból, hogy feltárjuk a két betegség között lévő biokémiai különbségeket. Az MMP-9 szignifikánsan eltért a két ectaticus betegcsoport között. Az MMP-9 és a TIMP-1 aránya 2,45 volt a PMD-s, 0,4 a KC-s és 0,23 a kontrollcsoportban.

Néhány korábbi tanulmány a könnyben lévő biomarkerek és a KC súlyossága közötti kapcsolatot vizsgálja. Ezen publikációk limitációja a kevés vizsgált beteg, illetve mediátor, valamint a szubklinikai esetek hiánya. Kutatásunk során célul tűztük ki különböző mediátorok (IL-6, IL-10, CXCL8 /IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA és PAI-1) könnyben lévő koncentrációjának vizsgálatát, valamint a biomarkerek között lévő asszociációk feltérképezését a KC-ban szenvedő páciensek teljes spektrumában, illetve egészségesek esetében. Ráadásul, ezen mediátorok és a KC súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korreláció megismerését is elterveztük. Továbbá célunk volt a Scheimpflug képalkotó paraméterek és az asthma bronchiale KC-ban való előfordulása közötti kapcsolat vizsgálata is.

Vizsgálatunk feltárja a különböző könnyben lévő mediátorok kooperációját, melyek részt vesznek a KC komplex patomechanizmusában. Tanulmányunk megmutatja a könnyben lévő mediátorok és a Scheimpflug paraméterek közötti asszociációkat, megerősíti a gyulladás szerepét a KC patogenezisében. A mediátorok pontos szerepének meghatározása és a KC progressziójának vizsgálata a későbbiekben alapul szolgálhat a patológiás cornealis elvékonyodás helyi gátlásához, vagy a végleges terápiához.

8. FÜGGELÉK



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/117/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Pásztor Dorottya
Neptun kód: LSP9A9
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Pásztor, D.**, Kolozsvári, B. L., Csutak, A., Berta, A., Hassan, Z., Kettesy, B., Gogolák, P., Fodor, M.: Scheimpflug Imaging Parameters Associated with Tear Mediators and Bronchial Asthma in Keratoconus.
J. Ophthalmol. 2016 (9392640), 1-7, 2016.
IF: 1.463 (2015)
2. **Pásztor, D.**, Kolozsvári, B. L., Csutak, A., Berta, A., Hassan, Z., Ujhelyi, B., Gogolák, P., Fodor, M.: Tear Mediators in Corneal Ectatic Disorders.
PLoS One. 11 (4), e0153186, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0153186>
IF: 3.057 (2015)



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



További közlemények

3. Kolozsvári, B. L., Losonczy, G., **Pásztor, D.**, Fodor, M.: Correction of irregular and induced regular corneal astigmatism with toric IOL after posterior segment surgery: a case series.
BMC Ophthalmol. 17 (3), 1-6, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12886-016-0397-8>
IF: 1.238 (2015)
4. **Pásztor, D.**, Kolozsvári, B. L., Losonczy, G., Fodor, M.: Femtosecond laser assisted keratoplasty combined with cataract extraction in a patient with keratoconus and oculocutaneous albinism.
Indian J. Ophthalmol. 64 (3), 246-248, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0301-4738.181743>.
IF: 0.825 (2015)
5. **Pásztor, D.**, Berta, A., Kolozsvári, B. L., Gogolák, P., Rajnavölgyi, É., Fodor, M.: Cytokine Profile in Tears of Patients following Autokeratoplasty-Immunological Implications.
Int. J. Autoimmune Disord. Ther. 1 (103), 1-7, 2015.
6. Fodor, M., Petrovski, G., **Pásztor, D.**, Gogolák, P., Rajnavölgyi, É., Berta, A.: Effects of awakening and the use of topical dexamethasone and levofloxacin on the cytokine levels in tears following corneal transplantation.
J. Immunol. Res. 2014, 1-8, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/570685>
IF: 2.934*

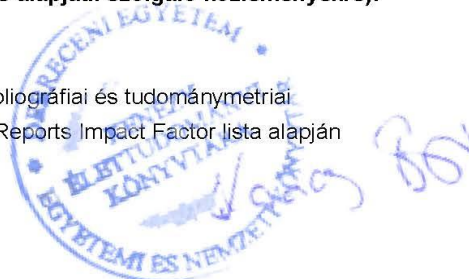
*A Journal of Immunology Research (ISSN 2314-8861) előző címváltozatának (Clinical and Developmental Immunology, ISSN 1740-2522) 2014 évi IF értéke.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,517

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 4,52

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

Debrecen, 2017.05.02.



9. TÁRGYSZAVAK

keratoconus

pellucid marginális degeneráció

könny

mediátorok

Scheimpflug paraméterek

Pentacam

topográfias és tomográfias indexek

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás szívvel köszönöm témavezetőmnek, Dr. Fodor Mariannak a sokoldalú segítségét, folyamatos bátorítását, magas szintű szakmai irányítását és értékes tanácsait, melyek nélkülözhetetlenek voltak számomra a munkám során. Szeretném megköszönni Dr. Berta András Professzor Úrnak, a DEKK Szemklinika igazgatójának, hogy PhD értekezésem elkészítését lehetővé tette a vezetése alatt álló klinikán, valamint Dr. Rajnavölgyi Éva Professzornőnek, Dr. Gogolák Péternek és a DE ÁOK Immunológiai Intézetnek, hogy kooperációs partnerként évek óta eredményesen vesznek részt a Szemklinikán végzett kutatásokban. Köszönettel tartozom minden szerzőtársamnak, különös tekintettel Dr. Kolozsvári Bencének. Köszönöm Dr. Hassan Ziadnak és az Orbident Kft. asszisztensnőinek, hogy lehetővé tették számomra a Pentacam használatát. Köszönetet szeretnék mondani Dr. Kardos Lászlónak, a nélküle kivitelezhetetlen statisztikai számítások korrekt elvégzéséért. Végül, de nem utolsó sorban, hálásan köszönöm a kutatásban résztvevőknek a részvételt, valamint férjemnek, barátaimnak és családomnak a sokoldalú, s messzemenően türelmes támogatását.