

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Könnyben lévő mediátorok vizsgálata cornealis ectasiákban

Dr. Pásztor Dorottya

Témavezető: Dr. Fodor Mariann



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2017

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés és irodalmi áttekintés	7
1.1. A cornealis ectasiák	7
1.2. Pentacam	10
1.3. Könnyben vizsgált mediátorok	13
2. Célkitűzések.....	20
3. Betegek és módszerek.....	21
3.1. Betegcsoportok	22
3.1.1. Mediátorok koncentrációjának meghatározása PMD-s, illetve hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal	22
3.1.2. KC-s betegek könnyében lévő mediátorok közötti, a Scheimpflug paraméterek és a mediátorok, valamint a Scheimpflug paraméterek és az asthma bronchiale közötti korrelációk vizsgálata	23
3.2. Klinikai vizsgálatok	23
3.2.1. Műszeres mérés	23
3.2.2. Könnygyűjtés és analízis	27
3.3. Alkalmazott statisztikai módszerek	28
4. Eredmények.....	29
4.1. Mediátorok koncentrációjának meghatározása PMD-s, illetve hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal ...	29
4.2. Mediátorok könnyben lévő koncentrációja közötti asszociációk feltérképezése a KC-ban szenvedő páciensek teljes spektrumában (suspect, szubklinikai és manifeszt esetekben), illetve egészséges szemek esetében.....	33
4.3. KC-s betegek könnyében lévő mediátorok és a KC súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korrelációk	35
4.4. A Scheimpflug képkalkoló paraméterek és az asthma bronchiale KC-ban való előfordulása közötti kapcsolat (az asztma hatása a Standardizált Pentacam Score-ra)	37
5. Megbeszélés	38
5.1. Mediátorok koncentrációjának meghatározása PMD-ben, illetve hasonló súlyosságú KC-ban szenvedő betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal	38
5.2. KC-s betegek könnyében lévő mediátorok közötti asszociációk, a Scheimpflug paraméterek és a mediátorok, valamint a Scheimpflug paraméterek és az asthma bronchiale közötti korreláció vizsgálata	44
6. Új eredmények összefoglalása	48

7. Summary of new results	49
8. Összefoglalás	49
9. Summary	50
10. Irodalomjegyzék	51
10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	51
10.2. Saját közlemények jegyzéke	60
11. Tárgyszavak/key words	62
12. Köszönetnyilvánítás	62

Rövidítések jegyzéke

A disszertáció helyesírásánál A magyar helyesírás szabályai (Magyar Tudományos Akadémia, 2015), az Orvosi helyesírási szótár (Fábián, 1992), a Brenckán Orvosi szótár (Benjamin, 2007) és A magyar orvosi nyelv tankönyve (Bősze, 2009) című szakkönyvek irányelveit és szabályzatát követtem.

APC: antigénprezentáló (bemutató) sejt (antigen-presenting cell)

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

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 (interferon gamma-induced protein 10)

CXL: cornealis cross-linking kezelés

D: dioptria

ECM: extracelluláris mátrix

EGF: epidermális növekedési faktor (epidermal growth factor)

ELISA: enzimhez kapcsolt immunoszorbens vizsgálat (enzyme-linked immunosorbent assay)

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 (matrix metalloproteinase)

NGF: idegi növekedési faktor (nerve growth factor)

NK: természetes ölősejt (natural killer cell)

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

Th sejt: segítő (helper) T-sejt

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 és irodalmi áttekintés

1.1. *A cornealis ectasiák*

A **cornea ectaticus betegségei** népegészségügyi szempontból jelentősek (Rebenitsch, 2011). Az ide tartozó kórképeket a cornea szerkezetének progresszív deformációja és elvékonyodása jellemzi a szaruhártya különböző pontjain az ectasia típusától függően. A progressziós ráta eltérő a különféle megbetegedésekben, és összefügg a törőerő szférikus komponensének növekedésével, illetve a szabálytalan asztigmatizmussal, valamint az emiatt bekövetkező látásélesség-csökkenéssel (Jinabhai, 2012). Ebbe a betegségcsoportba tartoznak a **keratoconus (KC)** és a **pellucid marginális degeneráció (PMD)** is a keratoglobushoz és a keratotorushoz hasonlóan. Pontos etiológiájuk jelenleg még ismeretlen, és az intenzív klinikai és patológiai kutatások ellenére az sem derült még ki, hogy teljesen különböző betegségekről van-e szó, vagy ugyanannak a kórképnek a fenotípusus variációiról (Krachmer, 1978; Krachmer, 1984; Belin, 2011; Jinabhai, 2011).

A **KC** egy olyan kétoldali, potenciálisan progresszív betegség, melyben a cornealis stroma elvékonyodása és előboltosulása következtében a szaruhártya jellegzetesen kúpszerű alakot vesz fel (Krachmer, 1984; Rabinowitz, 1998; Davidson, 2014). A protrúzió csúcsa leggyakrabban a cornea centrumától kissé temporal felé és lefelé található (Krachmer, 1984; Rabinowitz, 1998). A csúcsosodás irreguláris myopiás asztigmatiához, és a látásélesség csökkenéséhez vezet (Krachmer, 1984; Rabinowitz, 1998; Davidson, 2014).

A betegség etiológiája jelenleg még nem ismert részleteiben (Krachmer, 1984; Rabinowitz, 1998; Davidson, 2014; Galvis, 2015). A stromális kollagénrostok szilárdságának csökkenését és képződésük csökkent voltát gyanítják a háttérben (Süveges, 2010). Korábban a cornealis fibrillogenezis valamely genetikailag determinált zavarát feltételezték a betegség hátterében (Alberth, 1995). A betegek 6-8 %-ának van pozitív családi anamnézise, és a családfa analízis során a családi halmozódás hátterében változó penetranciájú autoszomális domináns öröklésmerült fel. A KC-s betegek családjában már a betegséggel összefüggésbe hozható topográfias mintázatokat is sikerült azonosítani (Rabinowitz, 1990), azonban ezek ellenére az örökletesség szerepe még ma sem teljesen tisztázott. Incidenciája függ a vizsgált populációtól, és a vizsgálatban

használt diagnosztikus kritériumoktól, összességében 50-230/100000 fő közé tehető az érintettek száma (Pinero, 2012).

A KC klasszikusan a pubertás idején kezdődik, és a harmadik-negyedik évtizedig progrediál, amikor a folyamat általában megáll. Azonban az is előfordulhat, hogy később kezdődik, s néhány év után szűnik meg a progresszió (Rabinowitz, 1998). Tipikus réslámpás jelei a Vogt-féle striák és a Fleischer gyűrű. Késői jelei közé tartoznak a Munson-jel, a Rizutti-jelenség és az apicalis cornea heg (Jinabhai, 2011). Ezeken kívül a stromális idegrost kötegek számának csökkenése, valamint a görbeség és az idegrost átmérő növekedése miatt prominens idegek is gyakran láthatóak (Niederer, 2008). A betegek gyakori szemüvegcsereéről, illetve kontaktlencse viselési intoleranciáról számolhatnak be. Később általában egyszemes kettős látás és jelentős fokú látásromlás jelenik meg a súlyos, progresszív myopia és asztigmatizmus következményeként, amely folyamatosan irregulárisává válik, és szemüveggel gyakran nem korrigálható teljesen. A progresszió sebessége és mértéke igen változó, és a felismeréskor egyoldalinak tűnő esetek körülbelül felében a diagnózist követő 16 éven belül a másik szem is KC-sá válik. Ennek a folyamatnak az első 6 éven belül legnagyobb a rizikója (Kanski, 2009).

A **PMD** a cornealis ectasiák egy ritka, lassan progrediáló, aszimmetrikus, a hagyományos értelemben vett gyulladásal nem járó formája, mely leggyakrabban a perifériás cornea alsó (atípusos esetekben a felső (Rao, 1999)) részének elvékonyodásával jár (Krachmer, 1984; Jinabhai, 2011; Tummanapalli, 2013). Az elvékonyodás jellemzően 1-3 mm-re a limbustól 4-8 óra pozícióban jelenik meg (Walker, 2008). A latin eredetű pellucid szó, ami tisztát jelent, a cornea tisztaságára utal, az ectasia jelenléte ellenére (Jinabhai, 2011). Réslámpás vizsgálattal az elvékonyulás mellett nem látható eltérés a corneában, és az egyéb cornealis ectasiákkal ellentétben, a PMD-hez nem társul vascularisatio, illetve lipid – vagy vaslerakódás sem (Krachmer, 1978; Krachmer, 1984; Rabinowitz, 1998; Walker, 2008).

A betegség leggyakrabban a férfiakat érinti (Kompella, 2002; Sridhar 2004), és általában a 2-5. évtizedben jelentkezik minden etnikai csoportot ugyanolyan mértékben érintve (Krachmer, 1984). Jelenleg még nincs bizonyíték a genetikai öröklődésére, s még nem ismert geográfiai predispozíció sem. A PMD-ben szenvedő betegek tünetei és jelei az állapot súlyosságától függően különbözőek. Ha a szaruhártya topográfiáját nem veszik figyelembe, a betegség korai

stádiumai észrevétlenek maradhatnak. Ezzel ellentétben a késői szakaszait pedig gyakran tévesen inferior KC-nak diagnosztizálják (Karabatsas, 1996; Rabinowitz, 1998; Schmitt-Bernard 2000; Ambrósio, 2002; Walker, 2008; Belin, 2011; Jinabhai, 2011).

A PMD-vel küszködő betegek leginkább nagymértékű és folyamatos látáscsökkenésre vagy régóta fennálló csökkent látásélességre panaszkodnak, mindkét tünet leggyakrabban az egyre fokozódó szabálytalan asztigmatizmus következménye (Tummanapalli, 2013). A hirtelen scleralis injekció, az éles fájdalom, a hirtelen látáscsökkenés és a fotofóbia az extrém ritkán előforduló akut hydrops és/vagy a spontán szaruhártya perforáció következményei lehetnek. A KC-ban előforduló réslámpás jelek PMD-ben nincsenek jelen.

Ezen betegek nagytöbbségének látása megfelelően korrigálható szemüveg és kontaktlencse használatával. Azonban számos sebészeti eljárás ismert azokra az esetekre, amikor a szemüveg és a kontaktlencse már nem nyújt megfelelő látásjavítást (Belin, 2011b; Jinabhai, 2011; Moshirfar, 2014; Alhayek, 2015; Maharana, 2016). Mivel a PMD-ben szenvedő betegeknél jelenleg a lézeres szemműtétek kontraindikáltak, így a topográfias -és tomográfias vizsgálatok jelentősége kiemelkedő.

Napjainkig nem ismert pontosan a betegség incidenciája és prevalenciája, azonban az általános irodalmi megegyezés szerint ez sokkal ritkább, mint - a leggyakoribb ectasia - a KC (Krachmer, 1984), de gyakoribb, mint a keratoglobus vagy a posterior KC (Jinabhai, 2011). Több szerző is leírta, hogy a PMD és a KC (Kayazawa, 1984; Varley, 1990; Sridhar, 2004), illetve a PMD és a keratoglobus (Sridhar, 2004) együtt is előfordulhatnak.

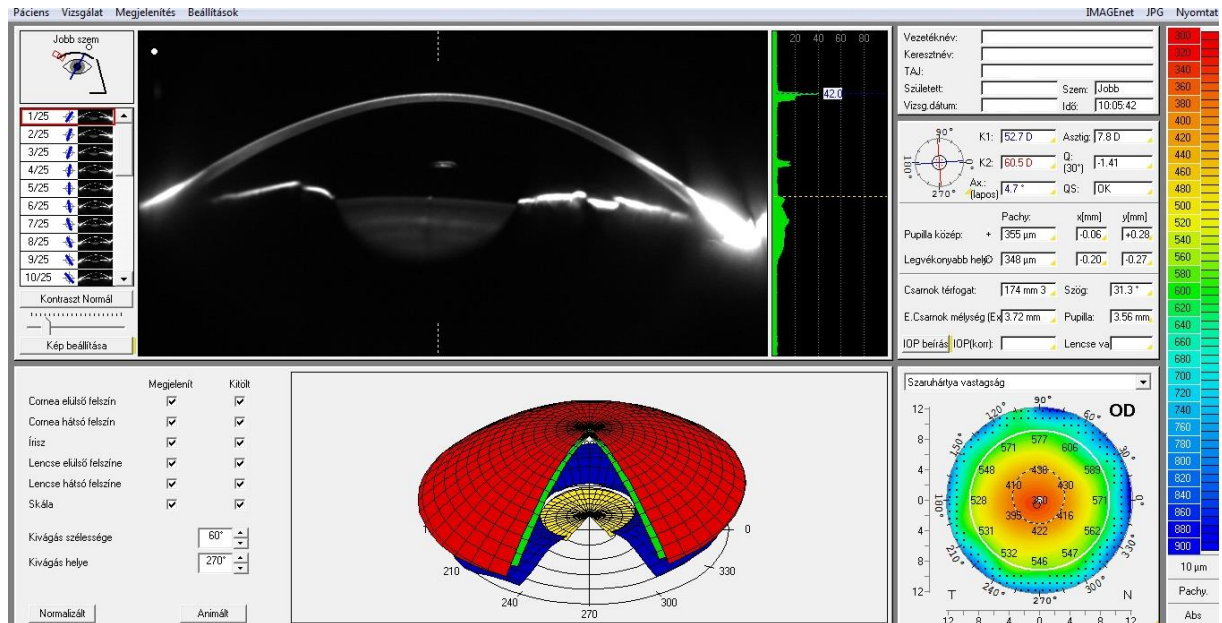
A cornea topográfok rutinszerű használata óta (1984) a cornealis ectasiák korai diagnosztizálása került előtérbe (Krachmer, 1984). Abban az időben a komputer-asszisztált videokeratoszkópia volt a legszenzitívebb eszköz a KC korai diagnosztizálására (Rabinowitz, 1998). Az elkövetkező években újabb technológiák (pl: Scheimpflug-képalkotás, Optikai Koherencia Tomográfia) megjelenése segítette a klinikusokat az ectaticus betegségek diagnosztizálásában. Az új sebészeti módszerek is megkövetelték a pontos pre- és posztoperatív vizsgálatot. Azonban még 2011-ben sem volt egységes a PMD és a korai, szubklinikai vagy FFKC diagnosztikus kritériuma (Belin, 2011). 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 (Rasheed, 2000; Sridhar, 2004; Belin, 2011b). A megfelelő terápia az ectasia stádiumától függ (Jinabhai, 2011). Mindkét betegség korai stádiumában a kezelés leggyakrabban nem sebészi: a KC-t tipikusan rigid gázpermeábilis kontaktlencsével, míg a PMD-t általában csak szemüveg használatával kezelik. Mindkét ectasia progressziója CXL kezeléssel lassítható (Hassan, 2013; Hassan, 2014; Alhayek, 2015). Az intracornealis gyűrű implantáció széles körben használt módszer KC-ban, de nem alkalmazható valódi PMD esetén (Belin, 2011b). Előrehaladott esetben mindkét betegség kezelhető penetráló vagy mély elülső lamelláris keratoplasztikával, de a technikai megoldás különböző (graft mérete, pozíciója) (Moshirfar, 2014; Maharana, 2016). Továbbá PMD-ben a sarló alakú ékreszekció szintén szóba jöhet (Jinabhai, 2011; Maharana, 2016).

1.2. Pentacam

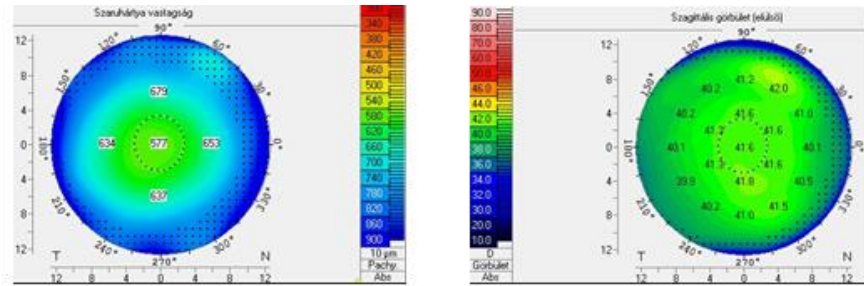
Jelenleg a cornealis ectasiák egyik legkorszerűbb diagnosztikai eszköze a Scheimpflug rendszerű Pentacam készülék (Pentacam HR, Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Németország), mely rotációs mozgást végez, és a vizsgálat során háromdimenziós képeket generál. A vizsgálat során a berendezés kék színű, 475 nm-es hullámhosszú, ultraibolya komponenst nem tartalmazó fényt alkalmaz. A Scheimpflug elven működő topográf speciális kamerát használ, mely a szem előtt függőleges kör mentén mozog, és 2 másodperc alatt 50 felvételt készít el. Minden kép 500 felvett pontot tartalmaz, vagyis maximálisan 25000 mérési pontot tudunk értékelni egy-egy vizsgálat esetében. A Pentacam készülék számítógéphez csatlakozik, s azon az eredmények megjelennek. A Scheimpflug elven működő készülékek egyik első generációs formája 5 féle funkcióval rendelkezett, ezért kapta a berendezés a Pentacam nevet. A készülék a következő vizsgálatok elvégzésére használható: limbustól limbusig tartó törőerő térkép (topográfia) készítésére, cornea vastagság mérésre (pachymetria), a szaruhártya transzparenciájának, az elülső csarnok anatómiai eltéréseinek és a szemlencse állapotának vizsgálatára. Nagy előnye, hogy ennél a technikánál nem szükséges a szemet érinteni, így előzetes érzéstelenítő adására sincs szükség. További előnye, hogy a vizsgálat ülőhelyzetben történik, és a betegtől csak minimális kooperációt igényel (a szemrést szélesre kell tárnia, és a durva szemmozgásokat kerülnie kell). A készülék talán legnagyobb haszna a cornealis ectasiák diagnosztikájában, hogy nemcsak a szaruhártya elülső felszínét, hanem (az Orbscan készülékekhez hasonlóan) a hátsó felszínt is képes vizsgálni, és

segítségével a szabálytalan felszínekről is pontos felvételek készíthetők (Németh, 2011). Továbbá Ambrósio és munkatársai számos indexet fejlesztettek ki az ectasiák szűrésére (Ambrósio, 2011; Ambrósio, 2014). Az 1. ábrán egy KC-s szemről készült áttekintő, Pentacammal készített felvételt láthatunk. A 2. és a 3. ábra egy normál, egy KC-s és egy PMD-ben szenvedő beteg szemét hasonlítja össze.

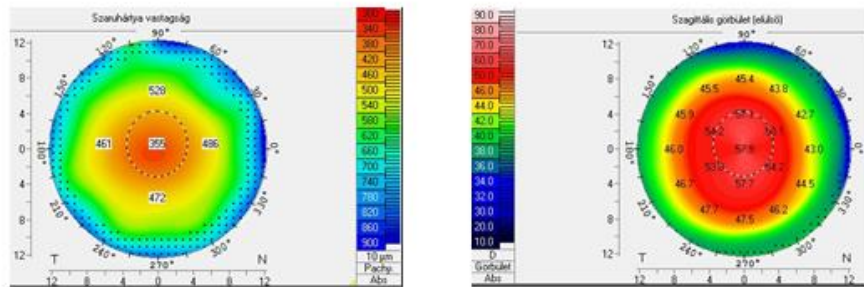


1. ábra: Pentacammal készített áttekintő felvétel egy keratoconusos szemről. (A kép felső részén egy Scheimpflug fotó található, melyen láthatóak az elülső szegmentum részei, vagyis a centrális részen elvékonyodott és kúpszerű alakot felvevő cornea, a szemlencse és az iris. Az alsó középső részen az elülső szegmentum rekonstruált 3D-s modellje, jobb oldalt mellette pedig a szaruhártya vastagsági térképe látható, melyen az elvékonyodás helyét piros szín jelzi.

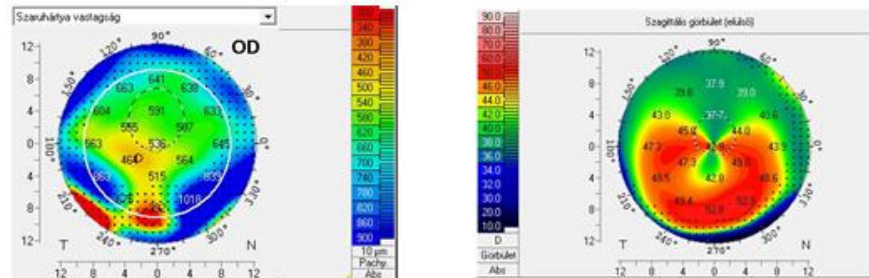
NORMÁL



KERATOCONUS

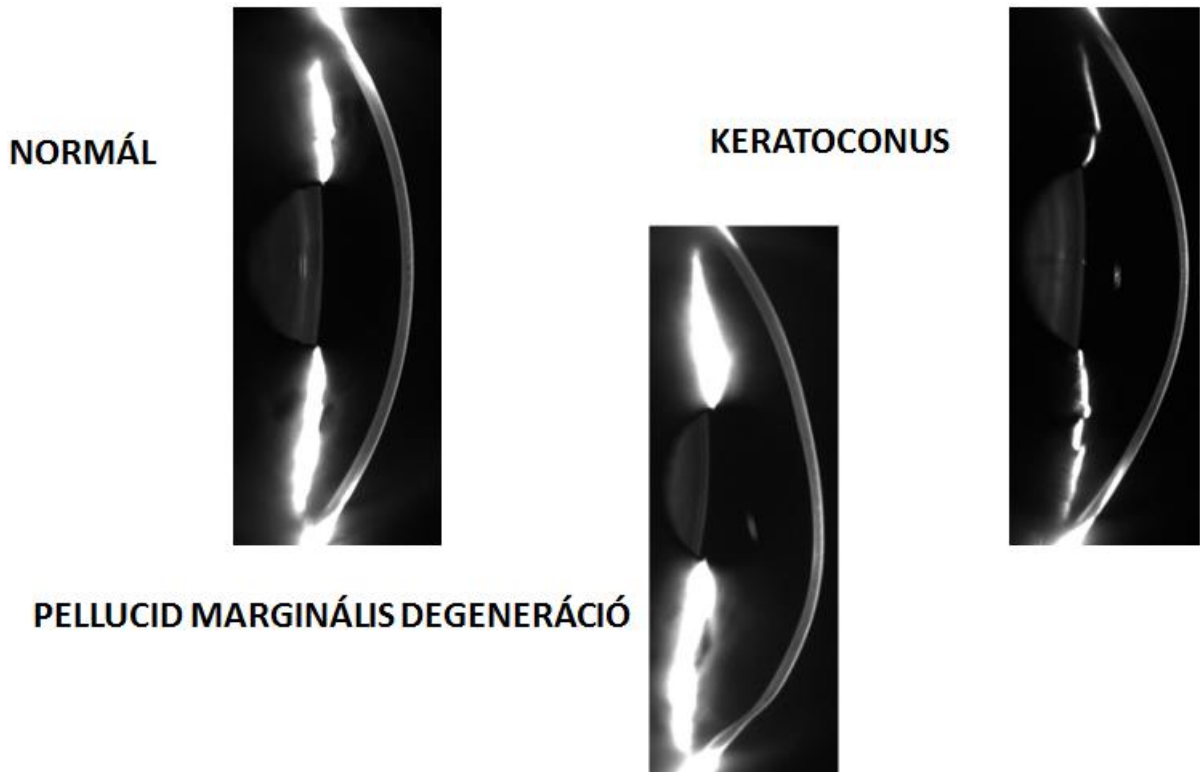


**PELLUCID
MARGINÁLIS
DEGENERÁCIÓ**



2. ábra: Egy normál, egy keratoconusos és egy pellucid marginális degenerációban szenvedő beteg szemének összehasonlítása Pentacammal készített szaruhártya vastagsági és elülső szagittális görbületi (topográfiai) térképeken. (A piros szín a vastagsági térképeken a fokozott elvékonyodás helyét, a topográfiai képeken pedig a törőerő növekedését jelzi.)

Pentacam - Scheimpflug képek



3. ábra: Pentacammal készített Scheimpflug képek (egy normál, egy középső részen elvékonyodó és előboltosuló keratoconusos és egy széli részen elvékonyuló pellucid marginális degenerációban szenvedő beteg szeméről készített felvételek).

A Pentacamhoz hasonló, de két rotációs kamerát tartalmazó Galilei-féle Dual-Scheimpflug készülékkel is végeztek már kutatásokat KC esetén (Demir, 2013).

1.3. Könnyben vizsgált mediátorok

A cornea és a conjunctiva nedvesen tartását biztosító könnyet a cornea felől kifelé haladva a következő rétegek alkotják: mucin réteg, vizes réteg, lipid réteg. Pislogáskor mindig újraképződik, normális vastagsága 9 mikrométer (Süveges, 2010). A könny a szem felszínének nedvesen tartásán kívül oxigént és tápanyagokat nyújt az epithelialis sejteknek, és biztosítja az

anyagcseretermékek eltávolítását is. Vizes fázisában anorganikus sók, glükóz és glikoproteinek találhatók. Lizozim, gamma-globulin, laktoferrin és citokin tartalmának köszönhetően antibakteriális hatással is bír, ami hozzájárul a fertőzések elleni védekezéshez is. A könnynek ez által szerepe van a fiziológiás immunfolyamatokban, és ugyanakkor a szemfelszínen keletkező mediátorok is megjelenhetnek a könnyben, ami lehetőséget biztosít a különféle mediátorok különböző kórfolyamatokban betöltött szerepének vizsgálatára.

A citokinek főként intercelluláris kapcsolatokat közvetítő, kis molekulatömegű glikoproteidek, melyek a különböző sejtek membránján megjelenő citokin receptorokhoz igen nagy affinitással kötődve fejtik ki hatásukat a célszervtől függően autokrin, parakrin, vagy ritkább esetben endokrin módon (Gergely, 2006). A citokinek kiemelkedő jelentőséggel bírnak a normális szaruhártya integritásának fenntartásában, és ezen kívül még a cornea immunpatológiájában (immunválasz, angiogenezis, kemotaxis, apoptózis, sebgyógyulás, cornea betegségek és a cornealis graft rejectio patogenezise) is fontosak. Termelésükben a szemfelszín különböző sejtjei (cornealis és conjunctivalis epithelsejtek, Langerhans sejtek, makrofágok, hízó sejtek, keratocyták, fibroblastok és vascularis endothelsejtek) vesznek részt (Torres, 2001). A citokinek csoportosítása nehéz feladat, ide tartoznak többek között az IL-ek, az IFN-ek, a TNF-ek és a kolóniastimuláló-faktorok is (Falus, 2007). Szerepet játszanak a járulékos sejtek és a lymphocyták együttműködése során, elősegítik a sejtek érését, aktiválódását, differenciálódását, és ezen kívül részt vesznek az immunfolyamatok utolsó fázisában, a különböző sejtek által közvetített effektor funkciókban is (Gergely, 2006). Hatásuk lehet pleiotróp (egy adott citokin különböző célsejteken különböző hatást vált ki), redundáns (két vagy több citokin hatása a célsejteken azonos), szinergisztikus (két citokin együttes hatása a célsejten nagyobb additív hatásuknál) és antagonisztikus (a célsejten az egyik citokin gátolja egy másik hatását) is (Erdei, 2012). A citokinek egymással, a kemokinekkel (kemoattraktáns citokinek) az MMP-kkel és egyéb molekulákkal együtt igen bonyolult és összetett hálózatot hoznak létre, és különböző körülmények között jelentősen eltérő immunválaszt képesek indukálni.

IL-6: A természetes immunitás folyamatainak egyik legfontosabb citokinje az IL-10, az IFN-ek, a TNF-ek és a kemokinek mellett. Ezek a citokinek a kórokozó szervezetbe kerülését követően azonnal termelődnek és szabadulnak fel a nem fajlagos immunrendszer sejtjeiből. Központi

szerepük van egyrészt a fertőzést követő gyulladásos reakciók kialakulásában, másrészt a különböző APC-kre gyakorolt hatásuk révén a fajlagos immunsejtek aktiválódásának és differenciálódásának szabályozásában. Ugyanakkor az IL-6 a B-sejtek plazmasejteké érését és ellenanyag termelő képességét is befolyásolja. Főként mononukleáris phagocyták, endothelsejtek, fibroblasztok, hízósejtek, granulocyták és aktivált T-sejtek termelik (Gergely, 2006). Az IL-6 jelátvittele gyulladásos választ indukálhat a cornealis stromában (Sakimoto, 2012).

IL-10: Eredetileg a Th-sejtek termékeként írták le, mely gátolja egyes citokinek termelődését. Befolyásolja az immunválasz során a Th1/Th2 egyensúly kialakulását a makrofágokra és más APC-kre gyakorolt hatása révén. Gátolja a Th1-sejtek aktiválódását, a makrofágok citotoxikus aktivitását és a gyulladás kialakulását is. Ezzel szemben stimulálja a B-sejtek ellenanyag termelését, és nélkülözhetetlen a B1-sejtek fejlődéséhez. Főleg az aktivált Th2-sejtek, CD5+ B-sejtek, keratinocyták és monocyták termelik (Gergely, 2006).

A **kemokinek** kis molekulatömegű, szerkezetüket tekintve nagy hasonlóságot mutató „csalogató” molekulák, melyek funkciója a leukocyták endothelialis adhéziónak fokozása, kemotaxis indukálása, és az effektor sejtek aktiválása (Erdei, 2012). Jelentős szerepük van a makrofágok és a neutrofil granulocyták gyulladás helyszínére vonzásában, illetve még a lymphocyták „homing” (letelepedés) folyamataiban is. Az eddig megismert legnagyobb citokin molekulacsaládot alkotják. A monocytákon kívül főként endothelsejtek, fibroblasztok, keratinocyták, simaizomsejtek és T-lymphocyták termelik őket, azonban gyulladás kialakulásakor valamennyi sejtfeleség képes termelésükre. Bár szerkezetileg nem hasonlít a legtöbb kemokinre, funkcionális hatásai miatt inkább a kemokinek közé sorolják az **IL-8**-at is (Gergely, 2006).

CXCL8/IL-8: A természetes immunitásban van elsősorban szerepe, úgy is szoktak hivatkozni rá, mint a “neutrofil kemotaktikus faktorra”. Ez az elnevezés is utal arra, hogy egyik elsődleges funkciója a kemotaxis indukciója a célsejtekben, vagyis főleg a neutrofilek (de a többi granulocytáé is) kemotaktikus vonzása a gyulladás helyére (Falus, 2007). Nemcsak vonzza ezeket a sejteket, hanem még a degranulációt és az endothelhez való adhéziónkat is segíti. Másik fő funkciója a phagocytosis elősegítése. A neutrofil granulocytákon kívül monocytákra, makrofágokra, T-sejtekre és egyéb sejtekre is képes hatni. Termelését kezdetben a makrofágok végzik, de az immunfolyamatok előrehaladtával epithel-, és endothelsejtek, valamint egyéb sejtek

is részt vesznek a CXCL8 produkcióban (Erdei, 2012). A CXCL8 normálisan predomináns kemoattraktánsként van jelen a könnyben (Thakur, 1998).

CXCL10/IP-10: makrofágok, endothelialis sejtek és fibroblasztok által termelt fibrotikus és angiosztatikus (gátolja a neovascularisatiót) hatású kemokin, mely ezeken túl az immun szabályozásban is részt vesz (Neville, 1997; Cao, 2011).

CCL5/RANTES: Kemokinként hat a T-sejtekre és az eozinofil, valamint a bazofil granulocytákra, és aktív szerepet játszik a leukocyták gyulladás helyére való toborzásában is. Bizonyos citokinek (pl: IFN γ , IL-10) segítségével aktiválja az NK sejteket, valamint az egyik legismertebb HIV-szuppresszív faktor. Elsősorban CD8+ T-sejtek termelik, de monocyták, epithel- és endothelsejtek, NK sejtek, fibroblastok, dendritikus sejtek és eozinofil granulocyták is részt vehetnek termelésükben (Erdei, 2012).

Az **MMP-k** a cink atomot tartalmazó endopeptidázok családjába tartozó enzimek, melyek az ECM sokféle alkotóját (többek között a kollagéneket és az elasztint) képesek lebontani. Normális körülmények között a degradáció és a remodelling által fenntartják az ECM integritását. Azonban, patológiás körülmények között segítik a szövetek lebontását, a tumorok infiltrációját és metasztázis képzését, az angiogenezist és egyéb gyulladásos reakciókat (Sakimoto, 2012). A legtöbb MMP hatástalan proenzim (inaktív zimogén, pro-MMP) formában szekretálódik, és az aktiválódásához szüksége van az ECM komponenseire (Acera, 2013). Eddig több mint 20 MMP-t mutattak ki. Fajlagosságuk alapján 4 fő csoportba sorolhatók: zselatinázok (MMP-2, -9), kollagenázok (MMP-1, -8, -13), stromelizinek (MMP-3, -10) és membrán típusú MMP-k (MMP-7, -26) (Balasubramanian, 2012). A cornea szövetében elsősorban az epithelsejtek, a stromális sejtek és a neutrofil granulocyták felelősek a termelődésükért. Részt vesznek a sebgyógyulás, a fekélyképződés, a szöveti differenciáció -és átépülés, az apoptózis, az angiogenezis és a nem specifikus immunválasz folyamataiban is (Fini, 1998).

TIMP-1: A szöveti metalloproteináz inhibitor családba tartozó, a szervezet legtöbb sejtje által expresszált glikoprotein, mely az MMP-k hatékony formáihoz kötődik, és visszafordíthatóan gátolja a fehérjebontó hatásukat. A legtöbb MMP (így az MMP-9 és MMP-13) gátlásán kívül

sokféle sejttípusban elősegíti a sejtproliferációt, valamint antiapoptotikus tulajdonsággal is rendelkezik. Termelését főként citokinek és hormonok szabályozzák (Sakimoto, 2012).

tPA: Az endothelsejtek által termelt és szekretált szerin proteáz, melynek elsődleges szerepe a plazminogén - plazmin átalakulás katalizálása. Az aktív plazmin kulcsszerepet játszik a fibrinolitikus útvonalban: elbontja a fibrinogént és a fibrint, ezáltal a tPA fontos szerepet játszik a fiziológiás és patológiás körülmények között keletkező trombusok lízisében. A plazmin részt vesz az ECM komponenseinek (fibrin, fibronectin, laminin és IV-es típusú kollagén) lebontásában, valamint képes az MMP-k aktiválására is. A **PAI-1** a plazma fő PAI-ja, főként az endothelsejtek által termelt természetes inhibitora a tPA-nak és az urokináznak (Vassalli, 1991).

NGF: Kritikus szerepe van a szenzoros és szimpatikus idegrendszer fenntartásában és fejlődésében, nélkülözhetetlen az axonok növekedéséhez, az idegsejtek túléléséhez és differenciálódásához. A gyulladásos betegségekben szupresszálja a gyulladást. Az NGF egy neuropeptid, mely nélkülözhetetlen a cornealis sejtek fejlődéséhez, túléléséhez, növekedéséhez és differenciálódásához (Blanco-Mezquita, 2013). A könnyfilm normál alkotója. Ismert, hogy elősegíti az idegi trofizmust és a sebgyógyulást, valamint szerepet játszik refraktív eljárások után is. Neurodegeneratív cornea fekélyek és száraz szem esetében is vizsgálták már jelentőségét. Valószínű, hogy a károsodott cornealis innerváció szerepet játszik a KC patogenezisében, és KC-s corneákban szignifikáns csökkenését figyelték meg az NGF jelátviteli útvonal károsodása miatt (Lambiase, 2005).

Klasszikusan a corneális ectasiákat nem gyulladásos eredetű betegségeknek tartjuk számon (Krachmer, 1984; Jinabhai, 2011), azonban egy mostanában megjelent tanulmány (Galvis, 2015), felveti a gyulladásos faktorok lehetséges kulcsszerepét ezen kórképek patomechanizmusában. KC-s betegek könnyéből kimutatták az IL-1b, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, és IL-17; TNF- α , TNF- β ; IFN- γ ; MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9, és MMP-13; katepszin B és a lipokalin-1 emelkedett szintjét (Lema, 2005; Lema, 2009; Pannebaker, 2010; Acera, 2011; Balasubramanian, 2012; Balasubramanian, 2013; Sorkhabi, 2015; Galvis, 2015). Az IL-4, IL-10, IL-12, és IL-13; TNF- α ; IFN- γ ; CCL5/RANTES; lipofilin C, lipofilin A; laktoferrin; α -fibrinogén; cink- α 2-glikoprotein; immunoglobulin A, immunoglobulin κ -lánc, polimer immunoglobulin receptor; foszfolipáz A2;

cisztatin S, cisztatin SN és a cisztatin SA csökkent szintjét a könnyben szintén leírták (Lema, 2010; Acera, 2011; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012b; Balasubramanian, 2013; Sorkhabi, 2015; Galvis, 2015). Kenney és munkatársai kimutatták a TIMP-1 csökkent mennyiségét a KC-s corneákban, normál corneákkal összehasonlítva (Kenney, 2005).

A KC-s betegek könnyében előforduló biomarkereket a korábbi tanulmányok már mélységében tanulmányozták, azonban PMD-ben még nem történtek ilyen vizsgálatok. A stromális kollagén degradációját a citokineknek, az MMP-knek (MMP-1, -3, -7, -9, -13), valamint ezek inhibitorainak (TIMP-1) és a növekedési faktoroknak (EGF, vascularis endothelialis növekedési faktor, NGF) a megváltozott expressziója kíséri KC-ban (Collier, 2001; Saghizadeh, 2001; Lema, 2008; Lema, 2009; Pannebaker, 2010; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012). A könnyben az IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-12, IL-13, CCL5/RANTES, TNF- α és az NGF megváltozott szintje szerepet játszhat a megbomlott cornealis homeosztázisban (Lema, 2005; Lema, 2008; Lema, 2009; Liu, 2009; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012). Azonban az még nem eldöntött, hogy a KC-s betegek corneájában, illetve könnyében a megváltozott citokin koncentráció az oka, vagy a következménye a betegségnek (Wisse, 2015). Ráadásul, bizonyos mediátorok szerepéről még igencsak keveset tudunk, s az eddigi eredmények is ellentmondásosak. A CCL5/RANTES-t könnyben még csak néhány tanulmányban vizsgálták, s szintjét a különböző vizsgálatok hol emelkedettnek, hol csökkentnek találták KC-s betegekben a kontrollcsoporthoz viszonyítva (Jun, 2011; Fodor, 2013).

Továbbá, a KC és az asthma bronchiale közötti kapcsolatot már körülbelül 50 évvel ezelőtt leírták (Sabiston, 1966). Számos olyan tanulmány van, mely bemutatja a KC, az asthma és más immunbetegségek közötti erős korrelációt, ezáltal hangsúlyozva az immunrendszer szerepét a KC patogenezésében (Nemet, 2010; Merdler, 2015).

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 (Lema és Durán, 2005), Jun és munkatársai 18 pácienszt vizsgáltak meg (Jun, 2011), Kolozsváriék kutatócsoportja pedig 14 KC-s szemet tanulmányozott (Kolozsvári, 2014). Egy nemrégiben megjelent cikkben Shetty és munkatársai (Shetty, 2015) megvizsgálták az MMP-9, IL-6, és a TNF- α , valamint a KC különböző stádiumai közötti asszociációt. Az említett tanulmányok (Lema és

Durán, 2005; Jun, 2011; Kolozsvári, 2014; Shetty, 2015) fő limitációi a kis betegszám, a kevés vizsgált mediátor illetve a szubklinikai esetek vizsgálatának a hiánya.

2. Célkitűzések

Tudományos munkánkban a következő célokat tűztük ki:

- I. Számos mediátor (IL-6, IL-10, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, NGF, tPA és PAI) koncentrációjának meghatározása PMD-s, valamint hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal.
- II. Különféle mediátorok (IL-6, IL-10, CXCL8 /IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-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 (IL-6, IL-10, CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA és PAI-1) és a KC súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korreláció felfedése.
- IV. A Scheimpflug képalkotó paraméterek és az asthma bronchiale KC-ban való előfordulása közötti kapcsolat felderítése.

3. Betegek és módszerek

Tanulmányainkat a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szemklinikáján végeztük. A vizsgálatba bevont betegek és egészséges kontrollok nem szedtek semmilyen a könnytermelést esetlegesen befolyásoló gyógyszert, illetve immunológiai eredetű betegségben sem szenvedtek. A Helsinki Deklaráció elveinek megfelelően a bevonást megelőzően minden résztvevőt részletesen tájékoztattunk, majd mindenkitől a vizsgálatokba való írásos beleegyezést kértünk. A kutatás a helyi etikai bizottság jóváhagyásával valósult meg.

A PMD diagnózisát akkor mondtuk ki, ha Pentacammal 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).

Pentacam készüléket használva az elülső és hátulsó elevációs térképet, az elülső topográfiát, a Scheimpflug képeket (360°-ban vizsgálva), a különböző indexeket és a teljes pachymetriás térképet (12 mm átmérő; a 9 mm-es limitált térkép beállítását minden esetben kikapcsoltuk) vettük figyelembe a PMD-s és a KC-s páciensek elkülönítésénél, ahogy azt korábban más szerzők javasolták (Walker, 2008; Belin, 2011). A PMD atípusos (superior) formáiban szenvedő betegeket nem vontuk be a vizsgálatba.

A KC diagnózisát az alábbi tünetek egyikének önálló vagy csoportos jelenléte esetén állítottuk fel: réslámpás vizsgálat során a cornea stroma állományának centrális vagy paracentrális elvékonyodása, a cornea kónikus elődomborodása, Fleischer-gyűrű, Voght-striák; illetve topográfiás eltérések (Rabinowitz, 1995). Az ectasiák pontos diagnózisához Scheimpflug elven működő Pentacam készüléket használtunk a javasolt beállításokkal (Belin, 2012). 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.

A vizsgálatokat könnygyűjtés előtt végeztük. 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, 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

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

Tanulmányunkban 7 PMD-ben szenvedő beteg összesen 9 szemét és 55 KC-s beteg 55 szemét vizsgáltuk meg. Kontrollként 24 egészséges ember 24 véletlenszerűen kiválasztott jobb vagy bal szeméből származó könnymintát használtunk fel.

A kontrollok és a KC-s betegek beválogatása a PMD-s csoport teljessé válása után kezdődött el. A kontrollokat akkor vettük bele a vizsgálatba, ha betöltötték a 29. évüket, és hajlandóak voltak a részvételre. A korhatár biztosította az átfedést a csoportok között az életkor tekintetében, anélkül, hogy ez a feltétel túl nehézkes korlátozás lett volna a KC-s csoportba való bevonáskor. A 29 év érzékeny határnak bizonyult. A KC-s páciensek akkor kerültek be a vizsgálatba, ha a fentebb leírt feltételeknek megfeleltek, és még az alábbi három - a súlyossági paraméterek hasonlóságára vonatkozó - kritérium közül legalább egy teljesült rájuk. Ezek a feltételek: a páciens szaruhártyájának K2 értéke a PMD-s csoport átlagos K2 értéke $\pm 0,2$ D, a Kmax értéke a PMD-s csoport átlagos Kmax értéke $\pm 0,8$ D, illetve az 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.

3.1.2. KC-s betegek könnyében lévő mediátorok közötti, a Scheimpflug paraméterek és a mediátorok, valamint a Scheimpflug paraméterek és az asthma bronchiale közötti korrelációk vizsgálata

Mindenféle stádiumban lévő (súlyos, mérsékelt és enyhe KC, szubklinikai KC vagy FFKC) KC-s betegeket, 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 $K2 < 45$ D, mérsékeltnek, ha a $K2$ 45 D és 52 D között, és súlyosnak, ha a $K2 > 52$ D volt (Lema, 2008; Jun, 2011). 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 BAD-D, az ART Max, a PPI Ave, vagy a 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 vett részt a vizsgálatban. Közülük 25 páciens súlyos, 21 mérsékelt, 5 enyhe, 18 pedig szubklinikai KC diagnózissal. A betegek mellett kontrollként 19 egészséges embert is bevontunk a vizsgálatba. A páciensek 69 szeme az abnormális, ectaticus, KC-s szaruhártyák teljes spektrumát reprezentálja, azonban az alcsoportok analízise nem volt a vizsgálatunk célja.

3.2. Klinikai vizsgálatok

3.2.1. Műszeres mérés

A betegeket és a kontrollokat is komplex szemészeti kivizsgálásnak vetettük alá. 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) és Rotációs Scheimpflug készüléket (Pentacam HR) használtunk. Pentacammal (szoftver verziók: 1,16r26 és 1,17r139) 3 felvételt készítettünk minden szemről. A képek minőségét ellenőriztük, s csak az „OK” jelzésű méréseket fogadtuk el. Ha a gép sárgával vagy pirossal jelzett hibát mutatott a minőségellenőrző ablakban, akkor a méréseket megismételtük (Miháltz, 2009; Ucakhan, 2011). Táblázatba gyűjtöttük az alábbi topo- és tomográfias paramétereiket és indexeket:

- **leglaposabb tengely mentén mért törőerő (K1)**
- **legmeredekebb tengely mentén mért törőerő (K2)**
- **maximális törőerő (Kmax)**
- **asztigmia=K2-K1**
- **minimum rádiusz (Rmin)**
- **legkiboltosulóbb hely cornea vastagsága (Pachy Apex)**
- **legvékonyabb cornea vastagság (Pachy Min)**
- **pupilla centrumában mért szaruhártya vastagság (Pachy Pupil)**
- **felszíni variancia index (ISV=index of surface variance)**
- **vertikális aszimmetria index (IVA=index of vertical asymmetry)**
- **keratoconus index (KI)**
- **centrális keratoconus index (CKI=central keratoconus index)**
- **magassági aszimmetria index (IHA=index of height asymmetry)**
- **magassági decentrációs index (IHD=index of height decentration)**
- **legvékonyabb ponton mért elülső eleváció (F.Ele.Th.=front elevation at the thinnest location)**
- **legvékonyabb ponton mért hátsó eleváció (B.Ele.Th.=back elevation at the thinnest location)**
- **maximum Ambrósio-féle relációs vastagság (ART Max=maximum Ambrósio's relational thickness)**
- **átlagos pachymetriás progresszió index (PPI Ave=average pachymetric progression index)**
- **minimum pachymetriás progresszió index (PPI Min=minimum pachymetric progression index)**
- **maximum pachymetriás progresszió index (PPI Max=maximum pachymetric progression index)**

- **Belin-Ambrósio deviációs index (BAD-D=Belin-Ambrósio deviation index)**

A **K1, K2, Kmax, asztigmia, Pachy Min, Pachy Pupil és Pachy Apex** az elnevezésükből következő jellemzőjét adják meg a vizsgált corneának.

Az **Rmin** a teljes mérési terület legkisebb görbületi sugara. Értéke módosul KC-ban.

Az **ISV** jellemzi a cornealis görbületi sugarak egyéni eltéréseit az átlagos értékekhez viszonyítva, így jól megadható vele a szaruhártya felszíni irregularitásának mértéke. Értéke megváltozik a cornea alaki torzulásával járó betegségekben. Kóros 37 felett.

Az **IVA** a szaruhártya sugarak szimmetriájának fokát adja meg a horizontális meridián alapján. Szintje nő asztigmatizmus esetén a ferde tengelyekben, valamint KC-ban és PMD-ben is.

A **KI** a KC súlyosságának jellemzésére használható általános index, melynek számításakor az aktuálisan mért keratometriás adatokat viszonyítjuk a normális értékekhez. Abnormális 1,07 felett.

A **CKI** a KI-hez részben hasonló index, azonban ennek számítása során a cornea centrális és perifériás területei képezik az arányosítás alapját. Fontosságát az adja, hogy alkalmasabb a centrális lokalizációjú KC súlyosságának jellemzésére, mint a KI. Kóros 1,03 felett.

Az **IHA** a felső és alsó szaruhártyafél elevációjának aszimmetriája. A horizontális meridián alapján alsó és felső félre osztott szaruhártyarészekén mért görbületi sugarak közötti szimmetria mértékét jellemző, az adatok súlyozásával kalkulált paraméter. Értéke nő KC-ban, 19 felett már abnormális.

Az **IHD**-t a magassági értékek Fourier analíziséből kalkulálja a készülék. Megadja vertikális irányban a decentráció fokát. KC-ban érzékeny paraméter (Belin, 2012).

A **BAD-D**-t az úgynevezett „d” értékekből – melyek több paraméter (az elülső és a hátulsó felszín, a pachymetriás progresszió, a legvékonyabb pont, és ennek az apexhez viszonyított rendellenes elhelyezkedése) normálistól való eltérésére (SD) vonatkoznak - logaritmikus regresszió analízissel számítja ki a készülék. Minden paraméter sárga színnel (gyanús) jelenik meg, ha >1,6 SD az átlagtól való eltérése, és pirossá (abnormális) változik, ha >2,6 SD-vel tér el az átlagtól. Az 1,6 SD alatti átlagtól való eltérések fehér színnel jelennek meg, és ezek a normál tartományban vannak. A BAD-

D optimalizálja és megkönnyíti az egészségesek és a KC-s betegek elkülönítését. Szignifikánsan növeli az ectasiáknak és gyanújuknak detektálási képességét, valamint gyanús esetek esetén növeli az ectasia kizárásának specificitását (Ambrósio, 2011; Ambrósio, 2014).

A **PPI**-ket a készülék a legvékonyabb ponttól kezdve a teljes szaruhártyán (360°-ban) végighaladva az összes hemimeridiánt figyelembe véve kalkulálja. Ehhez referenciaként egy normál átlagos populáció adatbázisát használja fel. Általában a legvastagabb hemimeridián nasalisán, a legvékonyabb pedig inferotemporálisan helyezkedik el. A pachymetriás értékek átlaga minden meridián mentén lehetővé teszi a maximális (leggyorsabb) és a minimális (leglassabb) progresszióval rendelkező meridiánok detektálását. A PPI értéke nő, ha a cornea hirtelen vastagabbá válik a legvékonyabb ponttól a periféria felé. A meridiánok átlaga adja a **PPI Ave**-t, a maximális pachymetriás növekedéssel jelentkező meridiánok a **PPI Max**-ot, a minimális pachymetriás növekedésűek pedig a **PPI Min**-t. (Ambrósio, 2011; Belin, 2012)

Az **ART** az egyik legjobb paraméter az ectasiák és rizikójuk felismerésében. A Pachy Min és a PPI kapcsolatából számítja a készülék. Az **ART Max** a Pachy Min és a PPI Max arányából számítható ki ($ART\ Max = Pachy\ Min / PPI\ Max$) (Ambrósio, 2011; Belin, 2012).

Az elevációs térképek megadják a cornea magassági értékelését egy referencia felszínhez viszonyítva. Különböző geometriai alakzatok – gömb, ellipszoid és tórikus ellipszoid - szolgálhatnak referencia felszínként. Az **F.ele.th.** és a **B.ele.th.** a legvékonyabb ponton mért elülső és hátsó elevációt adják meg. Értékük nő KC-ban, s annak gyanúja esetén (Pinero, 2012).

Az adatok értelmezéséhez vizsgálatainkban gömb referencia felszínt használtunk (Ambrósio, 2011; Belin, 2012).

3.2.1.1. A topo- és tomográfiás paraméterek közül a következőket vettük figyelembe: K1, K2, Kmax, asztigmia, Rmin, Pachy Apex és Min, ISV, IVA, KI, CKI, IHA és IHD.

3.2.1.2. A topo- és tomográfiás paraméterek közül a következőket gyűjtöttük Excel táblázatba: K1, K2, Kmax, asztigmia, Rmin, Pachy Pupil, Apex és Min, ISV, IVA, KI, CKI, IHA, IHD, F.Ele.Th., B.Ele.Th., PPI Min, Max és Ave, ART Max és BAD-D.

3.2.2. Könnygyűjtés és analízis

A komplex szemészeti és Pentacammal történő vizsgálat után könnymintát vettünk a betegek és a kontrollok szeméből. A mintákat érzéstelenítő csepp és stimulálás alkalmazása nélkül, atraumatikusan, a szemfelszín és a szemhéjakat nem érintve az alsó könnymeniszkusból steril üvegapillárisba gyűjtöttük reggel 8.00 és 9.30 között. A mintavétel 2 percig tartott. Ezután a levett könny mennyiségét regisztráltuk, majd a mintákat Eppendorf csövekbe juttattuk, és 15 percen belül, centrifugálás nélkül -80 °C-ra fagyasztottuk le, s felhasználásig ott tároltuk (Fodor, 2009). Minden felhasznált könnyminta mennyisége minimum 4 µl volt.

Multiplex mikrogyöngy mátrix (Cytometric Bead Array) technológia segítségével, áramlási citométerrel (FACS Array™ cytometer, BD Biosciences Immunocytometry Systems, San Jose, CA) mértük meg a könnymintákban lévő különböző mediátorok koncentrációját. A méréshez használt technológia alapját a lézeres gerjesztés után különböző intenzitással, de azonos hullámhosszon fluoreszkáló, festékkel töltött, a méretük alapján is több csoportba sorolt mikrogyöngyök képezik. A gyöngyök felületére a gyártók különböző fehérjékhez specifikusan kötődni képes antitesteket kötnek. A vizsgált anyag mintabeli koncentrációja áramlási citométer felhasználásával mérhető a detektáló, szintén fluoreszcens (de az előbbtől eltérő hullámhosszon emittáló) festékkel jelölt antitestek hozzáadása után. A gyöngyökhöz kapcsolt, illetve a fluoreszkáló festékkel jelölt antitestek a szendvics ELISA-ból ismert módon kötik a vizsgált fehérjét, mivel azonban a gyöngyök összekeverhetők, méretük és emissziójuk alapján differenciálhatók, így ezzel a módszerrel az ELISA-hoz képest kis mennyiségű mintából nagyszámú fehérje, jelen esetben citokinek és enzimek, egyidejű meghatározására nyílik lehetőség.

Az áramlási citométeres mérésekhez az egyszerre mérhető proteineket összeválogattuk, és a megfelelő FlowCytomix™ Simplex Kiteket használtuk, kombinációban a megfelelő FlowCytomix Basic Kittel, a gyártó (eBioscience, Bender MedSystems GmbH, Bécs, Ausztria) által javasolt felhasználási protokollon minimálisan módosítva (Fodor, 2013). 12,5 µl könnymintát (szükség esetén hígított könnymintát), vagy az ismert koncentrációjú citokin keverékből, vagyis a standard reagensből készített hígítási sor tagjait adtuk 12,5 µl csapda antitest-mikrogyöngy reagenshez, majd a szintén 12,5 µl biotinnel konjugált anticitokin antitest hozzáadása után az elegyet 2 órán át inkubáltuk. A fikoeritrin-konjugált streptavidin hozzáadása után további 1 órás

inkubáció, és a nem kötött reagensek mosással történő eltávolítása következett a mérés előtt. Ezt a módszert követve a könnymintákban lemértük az IL-6, IL-10, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, NGF, tPA és PAI-1 koncentrációját. Az adatokat FlowCytomix Pro 2,3 szoftver segítségével értékeltük ki. A standard görbéket 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 SD paraméterekkel jellemeztük.

A betegcsoportokat mediátor-koncentrációk és Scheimpflug kamerával mért keratometriás értékek (K1, K2, Kmax, asztigmia, 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 Pentacam 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 (hogy 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 PMD-s, illetve hasonló súlyosságú KC-s betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal

A különböző Pentacamos paraméterek értékeit a betegcsoportokban és a kontrollcsoportban (PMD: átlagéletkor: 46,4 év, férfi/nő arány: 3/4; korintervallum: 36-59 év, SD: 9,9; KC: átlagéletkor: 44,2 év, férfi/nő arány: 31/24, korintervallum: 29-61 év, SD: 8,3; kontroll: átlagéletkor: 44,5 év, korintervallum: 29-67 év, SD: 10,6) az 1.A táblázat mutatja.

	PMD (7 beteg 9 szeme)	KC (55 beteg 55 szeme)	Kontroll (24 egészséges 24 szeme)
K1 F (D)	42,4±5,6	45,6±4,0	43,4±1,4
K2 F (D)	49,1±4,0	49,3±4,1	44,3±1,6
Kmax	55,2±7,2	54,4±5,4	44,8±1,6
asztigmia (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

1.A táblázat: A Pentacam mérések átlagolt eredményei ±SD pellucid marginális degenerációban és keratoconusban szenvedő betegeknél, valamint egészséges kontrolloknál

Betegcsoportok: PMD: pellucid marginális degeneráció; KC: keratoconus.

Pentacam paraméterek: K1 és K2: a leglaposabb és a legmeredekebb tengelyben mért törőerő; asztigmia: K2-K1; Rmin: minimum rádiusz; Pachy Apex: legkiboltosulóbb hely cornea vastagsága; Pachy Min: legvékonyabb cornea vastagság; ISV: felszíni variancia index; IVA: vertikális aszimmetria index; KI: keratoconus index; CKI: centrális keratoconus index; IHA: a felső és alsó szaruhártyafél elevációjának aszimmetriája; IHD: magassági decentrációs index; Kmax: maximális törőerő.

A csoportok közötti különbségek az 1.B táblázatban találhatók. Olyan KC-s betegeket 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.

	PMD v. Kontroll	KC v. Kontroll	PMD v. KC
K1	p=0,312	p=0,01	p=0,006
asztigmia	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001
K2, Kmax, Rmin, Pachy Apex, Pachy Min, ISV, IVA, KI	p<0,0048	p<0,0001	p≥0,0814
CKI	p=0,834	p<0,0001	p=0,004
IHD	p<0,0001	p<0,0001	p=0,038
IHA	p=0,0465	p<0,0001	p=0,224

1.B táblázat: A Pentacam paraméterek különbsége az egyes csoportok között

Betegcsoportok: PMD: pellucid marginális degeneráció, KC: keratoconus.

Pentacam paraméterek: K1 és K2: a leglaposabb és a legmeredekebb tengelyben mért törőerő; asztigmia: K2-K1; Rmin: minimum rádiusz; Pachy Apex: legkiboltosulóbb hely cornea vastagsága; Pachy Min: legvékonyabb cornea vastagság; ISV: felszíni variancia index; IVA: vertikális aszimmetria index; KI: keratoconus index; CKI: centrális keratoconus index; IHA: a felső és alsó szaruhártyafél elevációjának aszimmetriája; IHD: magassági decentrációs index; Kmax: maximális törőerő (a félkövér értékek a szignifikáns asszociációkat reprezentálják, a szignifikancia szintje p<0,05).

A páciensek és egészségesek könnyben lévő mediátorkoncentrációja a különböző

csoportokban, valamint a csoportok közötti különbségek a 2.A és a 2.B táblázatban láthatók. A nem és a mediátorok koncentrációja közötti vizsgálatnál az NGF (átlag 5200 vs. 3200, $p=0,0252$) és az IP-10 szintjét (átlag 121 vs. 79, $p=0,047$) nőkben szignifikánsan magasabbnak találtuk. A többi mediátor koncentrációjában nem észleltünk szignifikáns különbséget a nemek között. A nem a csoporttagsággal (Kontroll, KC, PMD) nem mutatott összefüggést.

	PMD (7 beteg 9 szeme)	KC (55 beteg 55 szeme)	Kontroll (24 egészséges 24 szeme)
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	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

2.A táblázat: A különböző csoportok könnyben lévő mediátorkoncentrációjának átlaga ±SD.

Betegcsoportok: PMD: pellucid marginális degeneráció, KC: keratoconus.

Mediátorok: IL: interleukin; CXCL8: kemokin (C-X-C motif) ligand 8=IL-8; CXCL10: kemokin (C-X-C motif) ligand 10=IP-10: interferon gamma-indukált protein-10; CCL5: kemokin (C-C motif) ligand 5=RANTES: aktiváció által szabályozott normál T-sejt expresszált és szekretált citokin; MMP: mátrix-metalloproteináz; TIMP-1: szöveti metalloproteináz inhibitor-1; tPA: szöveti plazminogén aktivátor; PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1; NGF: idegi növekedési faktor.

	PMD v. Kontroll	KC v. Kontroll	PMD v. KC
CXCL8/IL-8(pg/ml)	p=0,031	p=0,011	p=0,479
MMP-9 (ng/ml)	p=0,004	p=0,655	p=0,005
MMP-13 (ng/ml)	p=0,004	p=0,004	p=0,198
tPA (pg/ml)	p=0,031	p=0,094	p=0,226

2.B táblázat: A mediátorkoncentrációk különbsége az egyes csoportok között.

Betegcsoportok: PMD: pellucid marginális degeneráció, KC: keratoconus.

Mediátorok: IL: interleukin; CXCL8: kemokin (C-X-C motif) ligand 8=IL-8; MMP: mátrix-metalloproteináz; tPA: szöveti plazminogén aktivátor (a félkövér értékek a szignifikáns asszociációkat reprezentálják, a szignifikancia szintje $p<0,05$).

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 SD-k miatt, az IL-10 (mely egy anti-inflammatorikus 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, IL-8 és a tPA a PMD-s csoportban volt a legalacsonyabb.

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

Számos szignifikánsan pozitív asszociációt figyeltünk meg a mediátor-koncentráció párok között a 69 KC-s betegből (átlagéletkor: 30,7, férfi/nő arány: 45/24, korintervallum: 13-68 év, SD:

10,3) és a 19 egészséges kontrolltól (átlagéletkor: 31,7, férfi/nő arány: 7/12, korintervallum: 18-67 év, SD: 11,5) gyűjtött könnymintákban, melyek a 3. táblázatban láthatók. A nem és a mediátorok koncentrációja közötti vizsgálatnál az IL-10 (átlag 7,3 vs. 6,6, $p=0,0006$) és a PAI-1 koncentrációt (átlag 5,6 vs. 3,5, $p=0,0173$) nőkben szignifikánsan magasabbnak találtuk. A többi mediátor koncentrációjában nem észleltünk szignifikáns különbséget a nemek között.

	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	CXCL8 (pg/ml)	CCL5 (pg/ml)	MMP-9 (ng/ml)	MMP-13 (ng/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	tPA (pg/ml)	PAI-1 (ng/ml)
IL-6 (pg/ml)			$p<0,0001^*$	$p<0,0001$	$p=0,0203$	$p<0,0001^*$	$p<0,0001^*$	$p<0,0001^*$	$p<0,0001$
IL-10 (pg/ml)	$p<0,0001$		$p<0,0001$	$p<0,0001$		$p<0,0001$		$p<0,0001$	$p<0,0001^*$
CXCL8 (pg/ml)				$p<0,0001$	$p<0,0001$	$p<0,0001$	$p<0,0001$	$p<0,0001^*$	$p<0,0001$
CCL5 (pg/ml)								$p<0,0001^*$	
MMP-9 (ng/ml)							$p<0,0001$	$p<0,0001$	
MMP-13 (ng/ml)				$p<0,0001$			$p=0,0001^*$	$p<0,0001$	$p<0,0001^*$
TIMP-1 (ng/ml)								$p<0,0001^*$	
PAI-1 (ng/ml)				$p<0,0001$			$p<0,0001^*$	$p<0,0001^*$	

3. táblázat: A különböző mediátorok koncentrációi között lévő szignifikáns pozitív asszociációk a keratoconusos betegeket és a kontrollokat is figyelembe véve

IL: interleukin; CXCL8: kemokin (C-X-C motif) ligand 8=IL-8; CCL5: kemokin (C-C motif) ligand 5=RANTES: aktiváció által szabályozott normál T-sejt expresszált és szekretált citokin; MMP: mátrix-metalloproteináz; TIMP-1: szöveti metalloproteináz inhibitor-1; tPA: szöveti plazminogén aktivátor; PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1 (a kapcsolat formája: lineáris, *négyzetes**, a

szignifikancia szintje $p < 0,05$; a függő változók a széli oszlopban lévők, a független változók a fejléc sorban lévők).

4.3. KC-s betegek könnyében lévő mediátorok és a KC súlyosságát jellemző Scheimpflug paraméterek közötti korrelációk

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 (4. táblázat).

	CXCL8 (pg/ml)	MMP-9 (ng/ml)	tPA (pg/ml)
BAD-D	p=0,020	p=0,005	
K2 F (D)		p=0,031	
Pachy Min	p=0,027#		p=0,023#

4. táblázat: Keratoconusos betegek könnyében lévő mediátorok és a Pentacam paraméterek közötti szignifikáns asszociációk

BAD-D: Belin-Ambrósio deviációs index; K2: a legmeredekebb tengelyben mért törőerő; Pachy Min: legvékonyabb cornea vastagság; CXCL8: kemokin (C-X-C motif) ligand 8=IL-8: Interleukin-8; MMP-9: matrix-metalloproteináz-9; tPA: szöveti plazminogén aktivátor (#: a negatív korrelációkat reprezentálja; a szignifikancia szintje $p < 0,05$).

Ezekon kívül korrelációkat találtunk a mediátorpárok és a Standardizált Pentacam Score (a különböző Pentacam értékek alapján kalkulált összetett paraméter) között. 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 (5. táblázat).

	TIMP-1 (ng/ml)						
		12,18	20,09	33,12	54,60	90,02	148,41
MMP-13 (ng/ml)	33,12	3,6 p>0,05	2,21 p>0,05	1,16 p>0,05	0,43 p>0,05	0,049 p>0,05	referencia pont
	54,60	4,96 [0,27; 9,64] p=0,038	2,90 p>0,05	1,42 p>0,05	0,5 p>0,05	0,15 p>0,05	0,37 p>0,05
	90,02	4,30 [0,021; 8,59] p=0,049	2,79 p>0,05	1,72 p>0,05	1,11 p>0,05	0,94 p>0,05	1,23 p>0,05
	148,41	N/A	N/A	2,06 p>0,05	2,25 p>0,05	2,42 p>0,05	2,58 p>0,05
	244,69	N/A	N/A	2,45 p>0,05	3,93 [0,084; 7,79] p=0,045	4,60 [0,69; 8,51] p=0,022	4,43 [0,29; 8,58] p=0,037

5. táblázat: A Standardizált Pentacam Score-ban talált additív különbségek a TIMP-1 és az MMP-13 változatos koncentrációi esetén egy jelzett referencia ponthoz viszonyítva, lineáris regresszióval életkorra, asztmára és kontaktlencse használatra korrigálva

A szögletes zárójelek a 95%-os konfidencia intervallumokat jelzik; N/A: nincs adat (a félkövér értékek a szignifikáns asszociációkat reprezentálják, a szignifikancia szintje $p < 0,05$)

Szignifikáns korrelációt fedeztünk fel számos mediátorpár koncentrációja és a Standardizált Pentacam Score között (6. táblázat). A nemre korrigálás nem változtatta meg értékelhető mértékben a paraméterek becsült értékét.

	IL-6 (pg/ml)	CCL5 (pg/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	tPA (pg/ml)
CXCL8 (pg/ml)	p=0,014	p=0,028		p=0,024
CCL5 (pg/ml)				p=0,026
MMP-9 (ng/ml)		p=0,04	p=0,001	
MMP-13 (ng/ml)			p=0,043	
tPA (pg/ml)			p=0,014	
PAI-1 (ng/ml)				p=0,02

6. táblázat: A mediátorpárok és a Standardizált Pentacam Score közötti szignifikáns asszociációk

IL: interleukin; CXCL8: kemokin (C-X-C motif) ligand 8=IL-8; CCL5: kemokin (C-C motif) ligand 5=RANTES: aktiváció által szabályozott normál T-sejt expresszált és szekretált citokin; MMP: mátrix-metalloproteináz; tPA: szöveti plazminogén aktivátor; PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1 (a szignifikancia szintje $p < 0,05$).

4.4. A Scheimpflug képalkotó paraméterek és az asthma bronchiale KC-ban való előfordulása közötti kapcsolat (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-ben, illetve hasonló súlyosságú KC-ban szenvedő betegek könnymintáiból, valamint ezen eredmények összehasonlítása egészséges kontrollokkal

A könnyben lévő szolubilis mediátorok szintje és jelentősége KC-ban és PMD-ben még nem ismert pontosan. KC esetén már korábban is történtek ilyen vizsgálatok (Collier, 2001; Smith, 2006; Mackiewicz, 2006; Pannebaker, 2010; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012; Sakimoto, 2012; Fodor, 2013; Kolozsvári, 2014), azonban jelen vizsgálatunk az első, mely PMD-ben szenvedő betegek könnymintáiban is vizsgálja különböző mediátorok jelenlétét. Az elvégzett kutatásaink eredményeképpen közelebb kerülhetünk ezen cornealis ectaticus betegségek és a különböző biomarkerek kapcsolatához.

A leggyakoribb cornealis ectasia a KC, és bár a PMD sokkal ritkább, de nem kevésbé fontos (Ambrósio, 2002). A két entitás lefolyása, prognózisa és kezelése lényegesen különbözik, ezért elkülönítésüknek klinikai jelentősége van (Sridhar, 2004; Jinabhai, 2011; Belin, 2011; Tummanapalli, 2013). Abban az esetben, ha a könnyfilmben lévő biomarkerek segítségével korai stádiumban 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 (Kayazawa, 1984; Ambrósio, 2003), azonban ezzel szemben jelen tanulmányunk eredményei alapján a PMD és a KC különböző entitásoknak tűnnek, nem pedig ugyanazon betegség fenotípusos variációinak.

Nem előrehaladott/mérsékelt esetekben az elvékonyodás klasszikus elhelyezkedésének köszönhetően a PMD réslámpás vizsgálattal elkülöníthető a KC-től (Rabonowitz, 1998). A cornealis ectasiák diagnosztikájában a réslámpás vizsgálat elvégzése után a Pentacam vizsgálat jelenleg a legpontosabb (Rabinowitz, 1998; Walker, 2008; Pinero, 2012; Tummanapalli, 2013). A betegségeket, illetve azok súlyosságát változatos topográfias és tomográfias indexekkel jellemezhetjük. Bár az eleváción alapuló Scheimpflug képalkotás megmutatja a klasszikus PMD jeleit, és a pontos diagnózis a perifériás cornea ábrázolásával felállítható, illetve a PMD a KC-től elkülöníthető, azonban még jelenleg sincsenek egységesen elfogadott topográfias kritériumok a

PMD kategóriába való besorolásra (Tummanapalli, 2013). A cornealis ectasiák elkülönítésében és jellemzésében - a keratometriás paraméterekhez hasonlóan - kiemelt jelentősége lehet a betegek könnyében található eltérő mediátor szintnek.

Hagyományosan a KC-t és a PMD-t nem gyulladásos eredetű betegségeknek tartják (Krachmer, 1984; Walker, 2008; Jinabhai, 2010; Tummanapalli, 2013). Ezzel ellentétben több nemrégiben készített tanulmány javasolja a KC patogenezisében a pro-inflammatorikus faktorok kulcsszereplőként való figyelembevételét (Fabre, 1991; Lema, 2005; Lema, 2009; Lema, 2010; Pannebaker, 2010; Acera, 2011; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012; Balasubramanian, 2013; Fodor, 2013; Kolozsvári, 2014; Sorkhabi, 2015; Galvis, 2015). Számos tanulmány rámutat arra, hogy a stromális kollagén lebomlása és a betegség progressziója együtt jár különböző pro-inflammatorikus citokinek, sejtadhéziós molekulák, MMP-k és azok inhibitorainak könnybeli megjelenésével és koncentrációjának változásával, amelyek ezáltal fontos szerepet játszanak a patogenezisben (Collier, 2001; Kenney, 2005; Lema, 2005; Lema, 2009; Pannebaker, 2010; Jun, 2011; Balasubramanian 2012; Fodor, 2013; Kolozsvári, 2014).

Tanulmányunkban különböző könnyben lévő biomarkerek koncentrációját vizsgáltuk meg. Legjobb tudásunk szerint ez az első olyan kutatás, mely a PMD és a KC közötti biokémiai különbségek feltárását célozza meg. Az MMP-k az ECM fehérjék degradációjáért felelős enzimek. A humán cornea kollagenolitikus környezete nagyon komplex, és az ECM lebontása valószínűleg szerepet játszik a cornealis ectasiák patomechanizmusában. A PMD-s és a KC-s betegek könnyében lévő emelkedett MMP-9 szint a szöveti degradatív folyamat részvételét jelzi a szaruhártya vékonyodásában. KC-s corneák esetén az MMP-9 szintjét korábbi tanulmányok emelkedettnek találták (Lema, 2009). A PMD-ben szenvedő betegeknél vizsgálatunkban kifejezetten emelkedett MMP-9 szintet találtunk. Jelen tanulmányunkban ez a mediátor volt az egyetlen, mely szignifikánsan különbözött a két pácienscsoport között ($p=0,005$). Korábbi vizsgálataink (az adatok nincsenek ábrázolva) azt mutatták, hogy a KC-s páciensek könnyében lévő MMP-9 koncentráció nem változik szignifikánsan az életkor előrehaladtával. A két betegcsoport között a szignifikánsan eltérő MMP-9 szint talán értékes segítség lehet majd ezen cornealis ectasiák elkülönítésében, és patomechanizmusának felderítésében. Korábbi tanulmányok emelkedett MMP-1, -3, -7, -9 és -13 szintet írtak le a KC-s betegek könnyében (Lema, 2005; Lema, 2009; Balasubramanian, 2012).

Továbbá ismert, hogy a szemfelszíni gyulladást proteázok – például az MMP-9 – aktiválják (Sakimoto, 2012; Acera, 2013). Az MMP-k és a citokinek egymással kölcsönhatásba lépve komplex hálózatot képeznek, beleértve például az MMP-9 és MMP-13 IL-6 általi stimulációját (Balasubramanian, 2012). Egyes szerzők erősen emelkedett MMP-13 szintet írtak le KC-ban, felvetve ezzel az intra -és extracelluláris patológiás kollagén destrukció szerepét (Mackiewicz, 2006), azonban más szerzők nem találtak szignifikáns különbséget a KC-s és a kontrollcsoportok között (Fodor, 2013). Ezekkel ellentétben, vizsgálatunkban az MMP-13 koncentrációja alacsonyabb volt mindkét cornealis ectasiában ($p=0,004$), mint a kontrollcsoportban. Továbbá a PMD-sek MMP-13 koncentrációja alacsonyabb volt, mint a KC-s betegeké, bár a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns. Erre pontos magyarázatot jelenleg még nem tudunk adni, 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 ECM komponenseinek lebontásában, valamint képes az MMP-k aktiválására is (Lijnen, 2001). Az MMP-k és a 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 szignifikánsan) szintjét írták le KC-ban (Zhou, 1998; Kolozsvári, 2013). Zhou és munkatársai 1998-as közleményükben közzé tették, hogy a tPA növekedett szintje nem specifikus a KC-ra, de jellemző a cornealis betegségek sebgyógyulási válaszára (Zhou, 1998). Ezekkel ellentétben Fodor és munkatársai 25%-kal csökkent baseline tPA szintet találtak, de a nagy SD-k miatt ez a különbség nem volt szignifikáns (Fodor, 2013). A PAI-1 gént számos növekedési faktor és citokin képes indukálni, és ez tudja gátolni a tPA enzim aktív formáját. Kutatásunk során a tPA koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt a PMD-seknél a kontrollcsoportéhoz 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 degenerációban. A PAI-1 szintet Zhou és munkatársai is hasonlóan találták KC-s és egészséges corneákban (Zhou, 1998).

A TIMP-ek a különböző MMP-k természetes inhibitorai, és számos ellentmondó tanulmány jelent meg a TIMP-1 expresszójáról a KC-s corneákban (Kenney, 2005; Matthews, 2007; Pannebaker, 2010; Balasubramanian, 2012). Jelen vizsgálatunkban, a TIMP-1 a PMD-s csoportban volt a legalacsonyabb a KC-s és a kontrollcsoporthoz viszonyítva, mely csökkent aktivitás hatással lehet a szöveti lebomlásra. 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.

Az anti-inflammatórikus IL-10-et 14x alacsonyabbnak találtuk PMD-ben, mint a kontrollcsoportban, és 7x alacsonyabbnak, mint KC-ban, bár a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns. Ez az eredmény támogatja azt a feltevést, hogy a citokinek és a kemokinek fontos szerepet játszanak a cornealis ectasiák patomechanizmusában. További tanulmányok szükségesek a MMP-k és a TIMP-ek, valamint az IL-ek, főleg az IL-10, aktív kölcsönhatásának megerősítéséhez és részleteinek felkutatására.

A KC-t klasszikusan a szaruhártya nem gyulladásos betegségeként tartjuk számon, azonban egyre nő azon tanulmányok száma, melyek számos citokin (például az IL-6, IL-8) fokozott jelenlétét (over-expresszióját) mutatják be ebben a cornealis ectasiában (Jun, 2011; Balasubramanian, 2012). Így a KC klasszikus, nem gyulladásos besorolása manapság talán már nem megfelelő (Pannebaker, 2010; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012; Sorkhabi, 2015; Galvis, 2015). 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 (Lema, 2005; Lema, 2009; Jun, 2011; Balasubramanian, 2012; Sorkhabi, 2015). Ráadásul a gyulladásos szemészeti betegségekben is a KC-hoz hasonló emelkedett citokinszinteket írtak le (Balasubramanian, 2012; Fodor, 2013), ezzel szemben a CXCL8, mely a könnyben normálisan kemoattraktánsként van jelen (Thakur, 1998), a mi tanulmányunkban szignifikánsan alacsonyabb volt mind a PMD-s, mind a KC-s csoportban a kontrollcsoportokhoz viszonyítva. Jelenlegi eredményeinktől és a korábbi irodalmi adatoktól eltérően kutatócsoportunk munkatársai korábban nem találtak szignifikáns különbséget kontaktencse viselés előtt a KC-s és nem KC-s csoportok között az IL-8 szintben (Fodor, 2013).

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 (bár a nagy szórás miatt nem szignifikánsan) CCL5 koncentrációt találtunk, mint a normál szaruhártyáknál. Ezen eredményeink ellentétesek a Jun és munkatársai által közöltekkel (Jun, 2011), azonban hasonlóak a debreceni Szemklinika keratoconus kutatócsoportja által korábban közölt eredményekhez (Fodor, 2013). 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.

Vizsgálatunk eredményei és a korábbi saját és irodalmi adatok között található eltérő eredmények feltételezhetően többféle tényező együttes következményeként adódtak. Az egyes tanulmányokban résztvevők különböző életkora, a betegség eltérő súlyossága, a betegség különböző progresszivitása, a különböző könnyminta-vételi és vizsgálati procedura is magyarázhatják az irodalmi adatoktól való eltéréseinket. Az egyes mediátorok komplex immunológiai hálózatot képeznek, folyamatosan sokféle kapcsolatot létesítenek egymással. Olyan általunk még ismeretlen mediátorok közötti interakciók is előfordulhatnak, melyek akár a vizsgálati procedúrától, akár egyéb tényezőktől függően megváltoztathatják a mérési eredményeket. Csak további kutatások (például a betegség progressziójára vonatkozóan), s egyéb részletesebb, nagyobb tanulmányok tudják majd megadni a pontos választ, és a különböző citokinek tényleges szerepét a cornealis ectasiák patomechanizmusában. Ráadásul, bizonyos mediátorokról (pl: CCL5/RANTES) csak minimális irodalmi adat áll rendelkezésre.

Az IP-10/CXCL10 egy makrofágok, endothelsejtek és fibroblasztok által termelt fibrotikus és angiosztatikus hatású kemokin (Cao, 2011), 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%-ban volt jelen.

Azt feltételezik, hogy a cornealis beidegzés károsodása valószínűleg szerepet játszik a KC patogenezisében, és több esetben leírták már az NGF expresszió szignifikáns csökkenését ezen

betegségben, mely az NGF jelátviteli út károsodása miatt jön létre, azonban az eredmények ellentmondóak (Brookes, 2003; Lambiase, 2005; Kolozsvári, 2014). NGF esetén vizsgálatunk során 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 progrediál, míg a PMD esetén ez nagyobb eséllyel fordul elő. Kíváncos lenne korai stádiumú fiatalabb PMD-s pácienseket is bevonni a vizsgálatba, mivel a betegség progressziójának a lehetősége a mediátor szintek megváltozásával járhat együtt. Továbbá, vizsgálatunkat olyan KC-s és PMD-s betegek között végeztük, akiknél mérsékelt és súlyos KCS ugyan kizáró ok volt, azonban enyhe formájú KCS-es betegek bekerülhettek a tanulmányunkba, ami minimális mértékben, de befolyásolhatta a kapott eredményeinket. A nem és a mediátorok koncentrációja között talált egy-egy összefüggésből nem vonhatjuk le az általános következtetést, hogy a koncentrációk összefüggenek a nemmel. A szignifikáns összefüggések hiánya a mintában ugyanakkor nem bizonyítja, hogy a populációban sincs ilyen összefüggés.

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. Későbbi vizsgálatok feladata lesz majd meghatározni, hogy ezen mediátorok közül melyek kritikusak a két entitás elkülönítésében.

Tanulmányunk az első, mely szignifikáns különbséget talált a vizsgált két cornealis ectasia között a könnyben lévő MMP-9 szintben. A két betegség közötti morfológiai különbségeket már korábbi tanulmányok is leírták (Krachmer, 1978; Krachmer, 1984; Ambrósio, 2002; Sridhar, 2004), azonban ez az első olyan nagyvolumenű kutatás, mely a számos könnyben előforduló fehérje (citokinek és enzimek) szintje közötti különbségeket mutatja be a két ectasiában. 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 biomarker szintje megváltozik a könnyben, és ezen változások talán segíthetnek a két entitás elkülönítésében. Az általunk vizsgált mediátoroknak szerepe lehet a cornealis ectasiákban lejátszódó komplex molekuláris mechanizmusokban. Ismételt kutatásoknak kell megerősítenie az MMP-9 koncentrációbeli különbségének jelentőségét a két betegségben. Emellett továbbra is feltáratlan, melyik proteint lehetne használni a fiatalabb korban progresszívabb KC, és a fiatalabb korban kevésbé progresszív PMD-s esetek elkülönítésére főleg akkor, amikor a mai modern képalkotó diagnosztikus eljárások is bizonytalanul képesek csak a két entitást korai stádiumban differenciálni. Mindezek miatt szükséges az általunk vizsgált, és egyéb biomarkerek pontos szerepének jövőbeli felderítése.

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

Napjainkig számos mediátor (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, CCL5/RANTES, MMP -1, -3, -7, -9, -13, TIMP-1, tPA, PAI, TNF- α , - β , IFN- γ , EGF, NGF) vizsgálata megtörtént már a könnyben, és egészséges szemeket kontrollként felhasználva leírták szintjük

változásait is (Lema 2005; Lema 2009; Jun, 2011; Balasubramanian 2012; Fodor, 2013; Kolozsvári, 2014). Azonban ezek az eredmények még igen gyakran ellentmondanak egymásnak. A KC-s páciensek könnyében emelkedett IL-6, TNF- α és MMP-9 szintet írtak le, ráadásul a szubklinikai esetekben is magasabb IL-6 és TNF- α szintet detektáltak (Lema, 2005; Lema, 2009). Jun és munkatársai emelkedett IL-6 és csökkent IL-12, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-13 és CCL5 szintet mutattak ki a KC-sok könnymintáiból (Jun, 2011). Balasubramanianék kutatócsoportja magasabb MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9 és MMP-13; IL-4, IL-5, IL-6 és IL-8; valamint TNF- α és - β szintet találtak ezen betegek könnyében (Balasubramanian, 2012). KC-s corneákban csökkent TIMP-1 mRNS szintet is feljegyeztek (Kenney, 2005). Kevés olyan tanulmány van, mely a könnyben lévő citokinek és a KC súlyossága közötti asszociációkat vizsgálja. Ezen publikációk limitációja a kevés vizsgált beteg és mediátor, valamint a szubklinikai esetek hiánya (Lema, 2005; Jun, 2011; Kolozsvári, 2014; Shetty, 2015).

Tanulmányunk második részében 9 könnyben lévő biomarker (IL-6, IL-10, CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA, és PAI-1) közötti asszociációkat határoztunk meg a KC-s betegek teljes spektrumában (a szubklinikaitól a manifeszt, súlyos esetekig). Legjobb tudásunk szerint, ez az első olyan vizsgálat, mely a mediátorpárok és a Pentacam segítségével megállapított KC súlyosság közötti asszociációkat is elemzi. A korábbi kutatásokkal összhangban igazoltuk, hogy a különböző könnyben található mediátorok – citokinek, kemokinek, enzimek és inhibitorok – együttműködnek, és egy komplex immunológiai hálózatot képeznek (Lema, 2005; Pannebaker, 2010; Lema, 2010; Jun, 2011; Acera, 2011; Balasubramanian, 2012; Balasubramanian, 2012b; Balasubramanian, 2013; Kolozsvári, 2014; Sorkhabi, 2015; Galvis, 2015). 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 eredményei 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 Pentacamos 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 (Jun, 2011; Clark, 2015; Mickiewicz, 2015).

Az MMP-k fenntartják az ECM integritását, azonban patológiás körülmények között segítik a szövetek lebontását és más gyulladásos reakciókat. A TIMP-1 megakadályozza a pro-MMP aktivációt és antiapoptotikus tulajdonsággal is rendelkezik (Knäuper, 2002; Kenney, 2005; Matthews, 2007; Sakimoto, 2012). Ezen 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 milióje komplexebb, mint várnánk (Kenney, 2005; Mackiewicz, 2006, Matthews, 2007; Sakimoto, 2012). 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 (Lijnen, 2001). 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 (Vassali, 1991). 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, Th2 citokinek közé tartozó IL-10-et (Jun, 2011). Eredményeink azt mutatják, hogy ezek a citokinek egymással együtt működnek, 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 (Stankiewicz, 2002; Hanania, 2008). Ezeknek a betegeknek a szérumban 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 szérumban Angiopoietin-1 szintje (Banach-Wawrzeńczyk, 2000; Stankiewicz, 2002; Higashimoto, 2008; Saad-El-Din Bessa, 2012; Hodsman, 2013; Moon, 2014; Grzela, 2015). 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 (Sabiston, 1966; Nemet, 2010; Merdler, 2015). 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 nagyobb randomizált tanulmányok szükségesek ezen erős korreláció igazolására.

Tanulmányunk erőssége a résztvevők jelentős száma (88 fő), valamint a sokféle könnyben lévő biomarker 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 biomarkert lemérni,

de ezek meghatározása a későbbi kutatásokra marad. Azonban eredményeink számos új korrelációt feltárnak, melyek a jövőbeli vizsgálatok alapjai lehetnek.

Összességében elmondható, hogy a KC-nak komplex patomechanizmusa van, melyben számos különböző, citokin, kemokin, enzim és inhibitor vesz részt. Vizsgálatunk feltárja a különböző könnyben lévő biomarkerek kooperációját, melyek egy komplex immunológiai hálózatot képeznek. Legjobb tudásunk szerint ez az első tanulmány, mely megmutatja a könnyben lévő mediátorok és a BAD-D, illetve a Pachy Min közötti asszociációkat. Eredményeink megerősítik a gyulladás szerepét a KC patogenezisében. A következő lépés ezen biomarkerek 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. Ráadásul vizsgálataink megerősítik az asthma bronchiale KC-ra gyakorolt hatását is. További prospektív tanulmányok szükségesek, melyek megvizsgálják az asthma szisztémás terápiájának a KC patomechanizmusára kifejtett hatását.

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 lineáris regressziós analízis segítségével az életkorra és a kontaktlencse használatra korrigálva. Vizsgálataink megerősítik az asthma bronchiale KC-ra gyakorolt hatását.

7. Summary of new results

- I. Our study has aimed to reveal the biochemical differences between PMD and KC. Our results show significant differences in the levels of MMP-9 in tear samples between these two ectatic corneal disorders.
- II. A number of significant positive associations were observed between pairs of mediator concentrations in tear fluid collected from KC patients and subjects with normal eyes.
- III. We aimed to reveal associations between pairs of mediators and the severity of keratoconus, evaluated using a Pentacam. Significant positive associations were found between BAD-D and CXCL8, BAD-D and MMP-9, and K2 and MMP-9. Significant negative associations were found between Pachy Min and CXCL8 and Pachy Min and tPA.
- IV. Significant associations were also found between the concentrations of a number of other pairs of mediators and the Standardized Pentacam Score.
- V. A strong, significant positive association between asthma and the Standardized Pentacam Score was found by linear regression adjusted for age and contact lens usage. Our study confirms the effect of bronchial asthma on keratoconus.

8. Összefoglalás

A cornea ectaticus betegségeinek népegészségügyi jelentőségük van. Ezen kórképeket a cornea szerkezetének progresszív deformációja és elvékonyodása jellemzi. A PMD nagyon ritka, a perifériás cornea alsó részének elvékonyodásával járó kórkép, míg a leggyakoribb cornealis ectasia, a KC esetében a szaruhártya jellegzetesen kúpszerű alakot vesz fel. Nem ismert pontosan, hogy teljesen különböző betegségekről van-e szó, vagy ugyanannak a kórképnek a fenotípus 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 képkalkoló 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 biomarkerek 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.

9. Summary

Corneal ectatic disorders have importance in public health. They are characterized by progressive deformation of the corneal architecture. PMD is a very rare peripheral thinning disorder of the inferior cornea, while KC is the most common primary corneal ectatic disease that gives rise to a cone-shaped cornea. It is not known whether PMD and KC are distinct diseases or whether they represent different clinical presentations of the same underlying disease process.

Corneal ectatic disorders are generally believed to be non-inflammatory diseases, however, recent studies have suggested that ectatic disorders are inflammatory conditions. Biomarkers in the tear film have been studied in patients with KC but no studies have been reported for PMD.

Our aim was to determine and to compare the concentrations of various mediators (IL-6, IL-10, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA, PAI-1 and NGF) in the tear film of patients with PMD and KC in order to reveal any possible biochemical differences between these two entities. MMP-9 presented relevant variances between the two patient groups. The ratios of MMP-9 and TIMP-1 were 2.45, 0.40 and 0.23 in PMD, KC and the controls, respectively.

A few preliminary studies examining the association between biomarkers in the tear fluid and the severity of KC, but the limitations of these reports are the small number of patients, or the few examined mediators, or the lack of subclinical cases. We aimed to determine associations between biomarkers in tear fluid (IL-6, IL-10, CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, tPA, and PAI-1) in the whole spectrum of keratoconic eyes and normal eyes. An additional goal was to explore associations between these mediators and the Scheimpflug parameters which characterize the severity of KC. Our aim was also to examine the relationship between the Scheimpflug imaging parameters and bronchial asthma in KC.

This study reveals the cooperation of the different mediators in tears all taking part in the complex pathomechanism of KC. Our study reveals associations between tear biomarkers and Scheimpflug parameters, confirms that inflammation is involved in the pathogenesis of KC. Determination of the precise role of these mediators, as well as examination of the progression of KC serve then as a platform for local inhibition of pathological corneal thinning, or eventual treatment.

10. Irodalomjegyzék

10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

Acera A, Vecino E, Rodríguez-Agirretxe I, et al. Changes in tear protein profile in keratoconus disease. Eye. 2011; 25: 1225–1233.

Acera A, Vecino E, Duran JA. Tear MMP-9 levels as a marker of ocular surface inflammation in conjunctivochalasis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54: 8285-8291.

Alberth B. Szemészet. *Medicina*. 1995; 36-37, 109-110.

Alhayek A, Lu PR. Corneal collagen crosslinking in keratoconus and other eye disease. *Int J Ophthalmol*. 2015; 8: 407–418.

Ambrósio JR, Klyce SD, Smolek MK, Wilson SE. Pellucid marginal corneal degeneration. *J Refract Surg*. 2002; 18: 86–88.

Ambrósio R Jr, Klyce SD, Wilson SE. Corneal topographic and pachymetric screening of keratorefractive patients. *J Refract Surg*. 2003; 19: 24–29.

Ambrósio R Jr, Caiado ALC, Guerra FP et al. Novel pachymetric parameters based on corneal tomography for diagnosing keratoconus. *J Refract Surg*. 2011; 27: 753–758.

Ambrósio R Jr, Ramos I, Lopes B et al. Assessing ectasia susceptibility prior to LASIK: the role of age and residual stromal bed (RSB) in conjunction to Belin-Ambrósio deviation index (BAD-D). *Rev Bras Oftalmol*. 2014; 73: 75–80.

Balasubramanian SA, Mohan S, Pye DC, Willcox MD. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus. *Acta Ophthalmol*. 2012; 90: e303-309.

Balasubramanian SA, Pye DC, and Willcox MD. Levels of lactoferrin, secretory IgA and serum albumin in the tear film of people with keratoconus. *Exp Eye Res*. 2012; 96: 132–137. b

Balasubramanian SA, Wasinger VC, Pye DC, Willcox MD. Preliminary identification of differentially expressed tear proteins in keratoconus. *Mol Vis*. 2013; 19: 2124–2134.

Banach-Wawrzeńczyk E, Dziedziczko A, Rość D. Fibrinolysis system in patients with bronchial asthma. *Med Sci Monit*. 2000; 6: 103–107.

Belin MW, Asota IM, Ambrósio R Jr, Khachikian SS. What's in a name: keratoconus, pellucid marginal degeneration, and related thinning disorders. *Am J Ophthalmol*. 2011; 152: 157–162.

Belin MW, Khachikian SS, Ambrósio R Jr. The use of intracorneal rings for pellucid marginal degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2011; 151: 558–559. b

Belin MW, Khachikian SS, Ambrósio R Jr. Elevation based corneal tomography. 2nd ed. Jaypee - Highlights Medical Publishers, Inc; 2012.

Benjámín K. (szerk.). Brencsán Orvosi szótár. Medicina. 2007.

Blanco-Mezquita T, Martinez-Garcia C, Proença R, Zieske JD, Bonini S, Lambiase A, Merayo-Llodes J. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloprotease-9. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013; 54: 3880-3890.

Bőszé P. (szerk.). A magyar orvosi nyelv tankönyve. Medicina. 2009.

Brookes NH, Loh IP, Clover GM, Poole CA, Sherwin T. Involvement of corneal nerves in the progression of keratoconus. Exp Eye Res. 2003; 77: 515–524.

Cao X, Ursea R, Shen D, Ramkumar HL, Chan CC. Hypocellular scar formation or aberrant fibrosis induced by an intrastromal corneal ring: a case report. J Med Case Rep. 2011; 5: 398.

Clark KE, Lopez H, Abdi BA et al. Multiplex cytokine analysis of dermal interstitial blister fluid defines local disease mechanisms in systemic sclerosis. Arthritis Res Ther. 2015; 17: 73.

Collier SA. Is the corneal degradation in keratoconus caused by matrix-metalloproteinases? Clin Exp Ophthalmol. 2001; 29: 340–344.

Davidson AE, Hayes S, Hardcastle AJ, and Tuft SJ. The pathogenesis of keratoconus. Eye. 2014; 28: 189–195.

Demir S, Sönmez B, Yeter V, Ortak H. Comparasion of normal and keratoconic corneas by Galilei Dual-Scheimflug Analyzer. Cont Lens Anterior Eye. 2013; 36:219-25.

Erdei A, Sármay G, Prechl J. Immunológia. Medicina. 2012; 129-53.

Fábián P., Magasi P. (szerk.). Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai. 1992.

Fabre EJ, Bureau J, Pouliquen Y, Lorans G. Binding sites for human interleukin 1 alpha, gamma interferon and tumor necrosis factor on cultured fibroblasts of normal cornea and keratoconus. Curr Eye Res. 1991; 10: 585–592.

Falus A, Buzás E, Rajnavölgyi É. Az immunológia alapjai. Semmelweis. 2007; 42-58.

Finí ME, Cook JR, Mohan R. Proteolytic mechanisms in corneal ulceration and repair. *Arch. Dermatol. Res.* 1998; 290: 12-23.

Fodor M, Gogolák P, Rajnavölgyi É, et al. Long-term kinetics of cytokine responses in human tears after penetrating keratoplasty. *J Interferon Cytokine Res.* 2009;29:375-380.

Fodor M, Kolozsvári BL, Petrovski G, et al. Effect of contact lens wear on the release of tear mediators in keratoconus. *Eye Contact Lens.* 2013; 39: 147-52.

Galvis V, Sherwin T, Tello A, Merayo J, Barrera R, Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye (Lond).* 2015; 29: 843–859.

Gergely J, Erdei A. *Immunbiológia. Medicina.* 2006; 141-150.

Grzela K, Zagorska W, Krejner A, et al. Prolonged treatment with inhaled corticosteroids does not normalize high activity of Matrix Metalloproteinase-9 in exhaled breath condensates of children with asthma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2015; 63: 231–237.

Hanania NA. Targeting airway inflammation in asthma: current and future therapies. *Chest.* 2008; 133: 989–998.

Hassan Z, Nemeth G, Modis L, Szalai E, Berta A. Collagen cross-linking in the treatment of pellucid marginal degeneration. *Indian J Ophthalmol.* 2014, 62:367-730.

Hassan Z, Szalai E, Módis L Jr, Berta A, Németh G. Assessment of corneal topography indices after collagen crosslinking for keratoconus. *Eur J Ophthalmol.* 2013; 23:635-640.

Higashimoto Y, Yamagata Y, Taya S et al. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: similarities and differences. *Respirology.* 2008; 13:128-133.

Hodsman P, Ashman C, Cahn A et al. A phase 1, randomized, placebo-controlled, dose-escalation study of an anti-IL-13 monoclonal antibody in healthy subjects and mild asthmatics. *Br J Clin Pharmacol.* 2013; 75: 118–128.

Jinabhai A, O'Donnell C, Radhakrishnan H. Changes in refraction, ocular aberrations, and corneal structure after suspending rigid gas-permeable contact lens wear in keratoconus. *Cornea.* 2012; 31:500–508.

Jinabhai A, Radhakrishnan H, O'Donnell C. Pellucid corneal marginal degeneration: A review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2011; 34: 56–63.

Jun AS, Cope L, Speck C, et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS ONE*. 2011; 6: e16437.

Kanski J. *Clinical Ophthalmology*. Butterworth-Heinemann. 2009; 288-290.

Karabatsas CH, Cook SD. Topographic analysis in pellucid marginal corneal degeneration and keratoglobus. *Eye (Lond)*. 1996; 10: 451–455.

Kayazawa F, Nishimura K, Kodama Y, Tsuji T, Itoi M. Keratoconus with pellucid marginal corneal degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1984; 102: 895–896.

Kenney MC, Chwa M, Atilano SR et al. Increased levels of catalase and cathepsin V/I2 but decreased TIMP-1 in keratoconus corneas: evidence that oxidative stress plays a role in this disorder. *Inv Ophthalmol Vis Sci*. 2005; 46: 823–832.

Knäuper V, Bailey L, Worley JR, Soloway P, Patterson ML, Murphy G. Cellular activation of proMMP-13 by MT1- MMP depends on the C-terminal domain of MMP-13. *FEBS Letters*. 2002; 532: 127–130.

Kolozsvári BL, Berta A, Petrovski G, Miháلتz K, Gogolák P, Rajnavölgyi É, et al. Alterations of tear mediators in patients with keratoconus after corneal crosslinking associate with corneal changes. *PLoS One*. 2013; 8: e76333.

Kolozsvári BL, Petrovski G, Gogolák P, Rajnavölgyi É, Tóth F, Berta A, Fodor M. Association between mediators in the tear fluid and the severity of keratoconus. *Ophthalmic Res*. 2014; 51: 46-51.

Kompella VB, Aasuri MK, Rao GN. Management of pellucid marginal cornea degeneration with rigid gas permeable contact lenses. *CLAO J*. 2002; 28: 140-145.

Krachmer JH. Pellucid marginal corneal degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1978; 96: 1217–1221.

Krachmer JH, Eagle RC, Belin MW. Keratoconus and related non-inflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol*. 1984; 28: 293–322.

- Lambiase A, Merlo D, Mollinari C, Bonini P, Rinaldi AM, D' Amato M, et al. Molecular basis for keratoconus: lack of TrkA expression and its transcriptional repression by Sp3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 16795–16800.
- Lema I and Durán JA. Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. *Ophthalmol*, 2005; 112: 654–659.
- Lema I, Durán AJ, Ruiz C, Díez-Feijoo E, Acera A, Merayo J. Inflammatory response to contact lenses in patients with keratoconus compared with myopic subjects. *Cornea*. 2008; 27: 758–763.
- Lema I, Sobrino T, Durán JA, Brea D, Díez-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93: 820–824.
- Lema I, Brea D, Rodríguez-González R, Díez-Feijoo E, Sobrino T. Proteomic analysis of the tear film in patients with keratoconus. *Mol Vis*. 2010; 16: 2055–2061.
- Lijnen HR. Elements of the fibrinolytic system. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; 936: 226–236.
- Liu Q, McDermott AM, Miller WL. Elevated nerve growth factor in dry eye associated with established contact lens wear. *Eye Contact Lens*. 2009; 35: 232–237.
- Mackiewicz Z, Määttä M, Stenman M, Konttinen L, Tervo T, Konttinen YT. Collagenolytic proteinases in keratoconus. *Cornea*. 2006; 25: 603-610.
- Magyar Tudományos Akadémia. A magyar helyesírás szabályai (12. kiadás). Akadémiai. 2015.
- Maharana PK, Dubey A, Jhanji V, Sharma N, Das S, Vajpayee RB. Management of advanced corneal ectasias. *Br J Ophthalmol*. 2016; 100: 34–40.
- Matthews FJ, Cook SD, Majid MA, Dick AD, Smith VA. Changes in the ballance of matrix metalloproteinases (TIMPs)-1 and -3 may promote keratocyte apoptosis in keratoconus. *Exp Eye Res*. 2007; 84:1125–1134.
- Merdler I, Hassidim A, Sorkin N, Shapira S, Gronovich Y, Korach Z. Keratoconus and allergic diseases among Israeli adolescents between 2005 and 2013. *Cornea*. 2015; 34: 525–529.

- Mickiewicz B, Tam P, Jenne CN et al. Integration of metabolic and inflammatory mediator profiles as a potential prognostic approach for septic shock in the intensive care unit. *Crit Care*. 2015; 19: 11.
- Miháltz K, Kovács I, Takács Á, Nagy ZZ. Evaluation of keratometric, pachymetric, and elevation parameters of keratoconic corneas with pentacam. *Cornea*. 2009; 28: 976–980.
- Moon KY, Lee PH, Park SW, Park CS, Jang AS. Serumangiopoietin is associated with lung function in patients with asthma: a retrospective cohort study. *BMC Pulm Med*. 2014; 14: 143.
- Moshirfar M, Edmonds JN, Behunin NL, Christiansen SM. Current options in the management of pellucid marginal degeneration. *J Refract Surg*. 2014; 30: 474–485.
- Nemet AY, Vinker S, Bahar I, Kaiserman I. The association of keratoconus with immune disorders. *Cornea*. 2010; 29: 1261–1264.
- Neville LF, Mathiak G, Bagasra O. The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 kD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C-X-C chemokine superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1997; 8: 207-19.
- Németh J. Szemészeti diagnosztikus képalkotó eljárások. *Semmelweis*. 2011; 29, 49-55.
- Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal microscopy reveals reduced innervation and reduction in cell density in all layers of the keratoconic cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2964–2970.
- Pannebaker C, Chandler HL, Nichols JJ. Tear proteomics in keratoconus. *Mol Vis*. 2010; 16: 1949–1957.
- Pinero DP, Nieto JC, Lopez-Miguel A. Characterization of corneal structure in keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2012; 38: 2167–2183.
- Rabinowitz YS. Videokeratographic indices to aid in screening for keratoconus. *J Refract Surg*. 1995; 11: 371–379.
- Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv. Ophthalmol*. 1998; 42: 297-319.

- Rabinowitz YS, Garbus J, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in family members of keratoconus. *Arch. Ophthalmol.* 1990; 108: 365–371.
- Rao SK, Fogla R, Padmanabhan P, Sitalakshmi G. Corneal topography in atypical pellucid marginal degeneration. *Cornea.* 1999; 18: 265–272.
- Rasheed K, Rabinowitz YS. Surgical treatment of advanced pellucid marginal degeneration. *Ophthalmol.* 2000; 107: 1836–1840.
- Rebenitsch RL, Kymes SM, Walline JJ, Gordon MO. The lifetime economic burden of keratoconus: a decision analysis using a markov model. *Am J Ophthalmol.* 2011; 151: 768–773.
- Saad-El-Din Bessa S, Abo El-Magd GH, Mabrouk MM. Serum chemokines RANTES and monocyte chemoattractant protein-1 in Egyptian patients with atopic asthma: relationship to disease severity. *Arch Med Res.* 2012; 43: 36–41.
- Sabiston DW. The association of keratoconus, dermatitis and asthma. *Trans Ophthalmol Soc N Z.* 1966; 18: 66–71.
- Saghizadeh M, Chwa M, Aoki A, Lin B, Pirouzmanesh A, Brown DJ, et al. Altered Expression of Growth Factors and Cytokines in Keratoconus, Bullous Keratopathy and Diabetic Corneas. *Exp Eye Res.* 2001; 73: 179–189.
- Sakimoto T, Sawa M. Metalloproteinases in corneal diseases: degradation and processing. *Cornea.* 2012; Suppl 1: S50-56.
- Schmitt-Bernard CF, Lesage C, Arnaud B. Keratectasia induced by laser in situ keratomileusis in keratoconus. *J Refract Surg.* 2000; 16: 368–370.
- Shetty R, Ghosh A, Lim RR et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9 and inflammatory cytokines in keratoconus patients is inhibited by cyclosporine A. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015; 56: 738–750.
- Smith VA, Matthews FJ, Majid MA, Cook SD. Keratoconus: matrix metalloproteinase-2 activation and TIMP modulation. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1762: 431–439.

Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Taheri N, Ahoor MH. Tear film inflammatory mediators in patients with keratoconus. *Int Ophthalmol*. 2015; 35: 467–472.

Sridhar M, Mahesh S, Bansal AK, Nutheti R, Rao G. Pellucid marginal corneal degeneration. *Ophthalmol*. 2004; 111: 1102–1107.

Stankiewicz W, Dabrowski MP, Chcialowski A, Plusa T. Cellular and cytokine immunoregulation in patients with chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Mediators Inflamm*. 2002; 11: 307–312.

Süveges I. *Szemészet. Medicina*. 2010; 141, 353.

Thakur A, Willcox MD, Stapleton F. The proinflammatory cytokines and arachidonic acid metabolites in human overnight tears: homeostatic mechanisms. *J Clin Immunol*. 1998; 18: 61–70.

Torres PF, Kijlstra A. The role of cytokines in corneal immunopathology. *Ocul. Immunol. Inflamm*. 2001; 9: 9–24.

Tummanapalli SS, Maseedupally V, Mandathara P, Rathi VM, Sangwan VS. Evaluation of corneal elevation and thickness indices in pellucid marginal degeneration and keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2013; 39: 56–65.

Uçakhan ÖÖ, Çetinkor V, Özkan M, Kanpolat A. Evaluation of Scheimpflug imaging parameters in subclinical keratoconus, keratoconus, and normal eyes. *J Cataract Refract Surg*. 2011; 37: 1116–1124.

Varley GA, Macsai MS, Krachmer JH. The results of penetrating keratoplasty for pellucid marginal corneal degeneration. *Am J Ophthalmol*. 1990; 110:149–152.

Vassalli JD, Sappino AP, Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. *J Clin Invest*. 1991; 88: 1067–1072.

Walker RN, Khachikian SS, Belin MW. Scheimpflug photographic diagnosis of pellucid marginal degeneration. *Cornea*. 2008; 27: 963–966.

Wisse RP, Kuiper JJ, Gans R, Imhof S, Radstake TR, van der Lelij A. Cytokine Expression in Keratoconus and its Corneal Microenvironment: A Systematic Review. *Ocul Surf.* 2015; 13: 272–283.

Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39: 1117–1124.

10.2. Saját közlemények jegyzéke



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)





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*

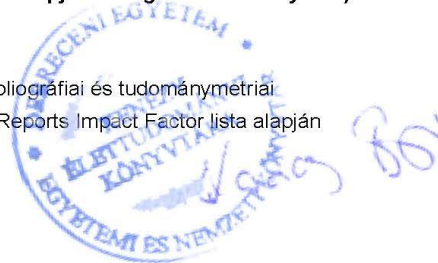
*A Journal of Immunology Research (ISSN 2314-8861) előző címváltozatának (Clinical and Developmental Immunology, ISSN 1740-2522) 2014 évi IF értéke.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,517

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

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

Debrecen, 2017.05.02.



11. Tárgyszavak/key words

keratoconus/keratoconus

pellucid marginális degeneráció/pellucid marginal degeneration

könny/tears

mediátorok/mediators

Scheimpflug paraméterek/Scheimpflug parameters

Pentacam/Pentacam

topográfias és tomográfias indexek/topographic and tomographic indices

12. 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.