

Szakmai zárójelentés

„Génexpresszió Fuchs-dystrophiában, pseudophakiás bullosus keratopathiában és keratoconusban”

OTKA T048477

2005 január 1- 2008 december 31.

Az apoptosist és az ahhoz vezető útvonalakat a kutatási tervben is szereplő fenti három betegcsoport mellett stroma dystrophiás betegek esetében is vizsgáltuk.

A vizsgálatok és azok eredményeinek rövid ismertetése betegcsoportonként:

1. Fuchs-dystrophia és pseudophakiás bullosus keratopathia

Apoptosishoz vezető útvonal Fuchs-dystrophiában és pseudophakiás bullosus keratopathiában

Megvizsgáltuk a genetikailag programozott sejthalálhoz (apoptosis) vezető útvonalat Fuchs-dystrophiás corneákban és pseudophakiás bullosus keratopathiában. Ebben a két betegcsoportban korábbi vizsgálatunkban szignifikánsan emelkedett apoptotikus sejtszámot találtunk (Szentmáry N, Szende B, Süveges I. Epithelial cell, keratocyte, and endothelial cell apoptosis in Fuchs' dystrophy and in pseudophakic bullous keratopathy. Eur J Ophthalmol 2005; 15: 17-22.)

Tizenhat Fuchs-dystrophiás, 13 pseudophakiás bullosus keratopathiás és 8 chorioidea melanoma miatt enucleált bulbusból (kontroll) származó cornea korong szövettani vizsgálatát végeztük. A p21, p27, p63, survivin, CD95, cathepsin, bax, bcl-2 és Ki67 expressziót immunhisztokémiai festések segítségével határoztuk meg.

Pozitív immunhisztokémiai reakciót az epithel sejtekben találtunk, a keratocyták és endotheliális sejtek pozitív reakciót a vizsgált festések esetében és a vizsgált csoportokban nem adtak. A p27 és survivin pozitív epitheliális sejtek száma szignifikánsan alacsonyabb ($p=0,048$), a cathepsin pozitív epitheliális sejtek száma szignifikánsan emelkedett ($p=0,004$) volt Fuchs-dystrophiában a kontrollokhoz képest. Pseudophakiás bullosus keratopathiában a p21 és p27 pozitív epithel sejtek száma a kontrollokhoz képest szignifikánsan alacsonyabb volt ($p=0,02$ és $0,005$).

Arra következtettünk, hogy az apoptosis Fuchs-dystrophiában a p27, cathepsin és survivin utakhoz, pseudophakiás bullosus keratopathiában a p21 és p27 utakhoz kapcsolt.

2. Keratoconus

Apoptosis keratoconusban

Egy korábban megjelent tanulmánnyal szemben (Kim WJ, Rabinowitz YS, Meisler DM, Wilson SE. Keratocyte apoptosis associated with keratoconus. Exp Eye Res 1999; 69: 475-81.), saját beteganyagunkban (15 cornea) nem találtuk emelkedettnek az apoptosis által elpusztuló corneális sejtek számát keratoconusos betegeknél a kontroll corneákhoz képest (8 chorioidea melanoma miatt enucleált bulbusból származó ép cornea korong). Mivel apoptotikus sejtek jelenléte ezekben a corneákban csak elvétve volt igazolható, ebben a betegcsoportban a genetikailag programozott sejthalálhoz vezető útvonalat nem vizsgáltuk.

3. Stroma (granuláris, maculáris és reticularis) dystrophia

A) Apoptosis és sejtproliferáció stroma dystrophiában

Meghatároztuk a corneális sejtek proliferációját és apoptosist granuláris, maculáris és reticularis dystrophiában.

Szövetteni vizsgálatunkat 12 granuláris (9 beteg,) 13 maculáris (12 beteg) és 14 reticularis (13 beteg) dystrophiás szaruhártyán végeztük, melyeket 4 chorioidea melanoma miatt enucleált bulbusból származó ép cornea koronghoz (kontroll) hasonlítottunk. A sejtproliferációt Ki67 immunhisztokémiai festés, az apoptosist TUNEL próbával határoztuk meg.

A dystrophiás és a kontroll corneákban Ki67 pozitív sejteket nem találtunk. A kontroll corneákban apoptotikus aktivitás nem volt igazolható. Granuláris dystrophiában az átlagos (normalizált) apoptotikus keratocytaszám $1,1 \pm 1,7$, reticuláris dystrophiában $0,5 \pm 1,1$ volt ($p = 0,36, 0,63$). A kontrollokhoz képest maculáris dystrophiában találtunk szignifikánsan emelkedett apoptotikus keratocytaszámot ($1,6 \pm 1,2$; $p = 0,01$).

A keratocyták apoptosisa pathogenetikai faktor lehet maculáris dystrophiában. Granuláris és reticuláris dystrophiában a keratocyták apoptosisa a dystrophia progressziójának lehet kísérőjelensége.

(Ebben a témában megjelent közlemény: Szentmáry N, Takács L, Berta A, Szende B, Süveges I, Módos L. Cell proliferation and apoptosis in stromal corneal dystrophies. *Histol Histopathol* 2007; 22: 837-45. **IF: 2,182**

Előadás: 3.)

B) Apoptosishoz vezető útvonal macularis dystrophiás corneákban

Megvizsgáltuk a genetikailag programozott sejthalálhoz (apoptosis) vezető útvonalat macularis dystrophiában, ahol a fenti vizsgálatban szignifikánsan emelkedett apoptotikus keratocytaszámot találtunk.

Tíz macularis dystrophiás (10 beteg) és 8 chorioidea melanoma (8 beteg) miatt enucleált bulbusból (kontroll) származó cornea korong szövetteni vizsgálatát végeztük. A p21, p27, bax, cathepsin és survivin expressziót immunhisztokémiai festés segítségével határoztuk meg. A pozitív reakciót adó sejtek számát 100 sejtre határoztuk meg és százalékosan adtuk meg. Eredmények: A macularis dystrophiás corneák epitheliumában a bax (25,6% vs 0%) erősebb, a p21 (0% vs 35,7), p27 (0% vs 87,5%), cathepsin (30,7% vs 58,8%) és survivin (37,6% vs 52,1%) gyengébb pozitivitást mutatott, mint a kontrollokban. A különbség statisztikailag szignifikáns a p21 és p27 gének esetében volt ($p < 0,05$ mindkettő).

A p21 keratocytákban (3%), a p27 endothelialis sejtekben (1%) is pozitív volt macularis dystrophiában, de negatív a kontrollokban (0%). A bax, cathepsin és survivin gének nem expresszálódtak keratocytákban és endothelialis sejtekben egyik csoportban sem.

A sejtek p21 és p27 génexpressziójának csökkenése macularis dystrophiában azok apoptotikus sejthalállal szembeni védekezésével magyarázható.

(Kézirat ebben a témában elbírálás alatt

Előadás: 5.)

C) Sejtadhéziós molekulák stroma dystrophiákban

A Debreceni Egyetemen Együttműködésben stroma dystrophiás betegek esetén sejtadhéziós molekulák (ICAM-1, E-selectin, E-cadherin) expressziójának vizsgálatára is sor került immunhisztokémiai módszerrel.

Az ICAM-1 jelenlétét granuláris dystrophiában az epitheliumban és a keratocyták között helyenként, az endotheliumban diffúzan lehetett megfigyelni. Macularis dystrophiában az epitheliumban és endotheliumban diffúzan, a keratocyták között helyenként volt megfigyelhető. Reticuláris dystrophiában csak az epitheliális és endotheliális sejtek mutattak diffúz ICAM-1 pozitivitást. Az E-selectin jelenléte nem volt igazolható a stroma dystrophiás

corneák esetében, az E-cadherin az epitheliális sejtekben volt kimutatható mindhárom cornea dystrophia típusban.

Normál corneák a vizsgált adhéziós molekulákat nem expresszálták.

Az adhéziós molekulák expressziójának megváltozása részt vehet a stroma dystrophiák pathogenezisében.