

Chlamydia pneumoniae fertőzés szerepe a makula degeneráció kialakulásában angiográfiával igazolt koszorúérbetegekben

Dr. Facskó Andrea

Debreceni Egyetem, OEC, Szemklinika

1. Bevezetés

1.1. Előszó

Az OTKA támogatásból az eredeti célkitűzésünk mellett (Chlamydia pneumoniae fertőzés szerepe a makula degeneráció kialakulásában koszorúérbetegekben) megvizsgáltuk az egyéb gyulladásos mediátorok (interleukinok) és trombotikus folyamatok (Leiden faktor) szerepét is különböző szemészeti betegségekben. Az OTKA téma bővítését a következő okok magyarázták: 1) a Chlamydia, mint kóroki tényező mellett az egyéb gyulladásos mediátorok is fontos szerepet töltenek be a különböző szemészeti betegségek etiopatogenezisében; 2) a koszorúérbetegekből származó vérminták lehetővé tették egyéb tényezők/faktorok (pl. Leiden mutáció) vizsgálatát is; 3) törekedtünk a különböző szemészeti betegségek kóroki tényezőinek - lehetőség szerint - komplex tisztázására (hogyan az esetleges összefüggéseket is vizsgálhassuk).

Ezért e beszámoló kapcsán valamennyi - az OTKA támogatásból részben/egészben finanszírozott - gyulladásos ágensekkel/mediátorokkal kapcsolatos klinikai kutatási megfigyeléseinket összefoglaltuk. Ezek alapvetően három témakör köré csoportosíthatóak: 1) a Chlamydia kóroki szerepének vizsgálata; 2) a gyulladásos mediátorok szerepének tisztázása és 3) a trombotikus folyamatok - mint kockázati tényezők - vizsgálata különböző szemészeti betegségekben.

1.2. Szakmai bevezetés

A cytokinek és az egyéb krónikus gyulladást fenntartó ágensek (Chlamydia, interleukin-6 [IL-6]), valamint az antithromboticus folyamatok (aktivált protein C) központi pathogeneticus szerepe jól ismert a különböző szervi gyulladásos folyamatokban, illetve a cardiovascularis betegségek többségében (atherosclerosis, myocardialis infarctus, stroke stb.). Ugyanezen tényezőknek (Chlamydia, cytokinek és a thromboticus folyamatok) fontos szerepük lehet a szembetegségek különböző formáiban is.

A felnőttkori súlyos látáscsökkenés és vakság vezető oka a fejlett országokban az időskori macula degeneratio (AMD, age related macular degeneration). Egy, az Egyesült Államokban végzett felmérés szerint a 40 évesnél idősebb populációban 28 emberből egy súlyosan látáskárosodott vagy vak, közülük a fehér bőrűek több mint fele (54,4%) AMD-ben szenved [1]. Ismert tény, hogy az AMD gyakorisága az életkor előrehaladtával növekszik, hetven éves kor felett ugrásszerűen megemelkedik a megbetegedések száma. Hajlamosító tényező a női nem, a fehér bőrszín, a világos színű szivárványhártya és a hypermetropia [2, 3]. A betegség etiológiája nem tisztázott, bár számos rizikótényező szerepét felvetették. Ilyenek a dohányzás, a hipertónia, a hyperlipidaemia, az atherosclerosis, [4, 5] a diabetes mellitus, a post menopausa [5] a túlzott napfény expozíció [6] az oxidatív stressz és az antioxidánsokban szegény étrend [7]. A megbetegedés folyamatosan progrediálva a centrális látás elvesztését, ezzel szociális vakságot okoz, terápiás lehetőségei jelenleg igen korlátozottak. Így a betegség eredetének pontos tisztázása, a befolyásolható rizikótényezők azonosítása fontos szerepet kap, lehetőséget adva egy hatékony prevenció stratégia kidolgozására. Az AMD gyakran társul cardiovascularis betegségekkel, hajlamosító tényezőik között is több közös található. A hipertensio, hypercholesterinaemia és atherosclerosis talaján kialakuló microangiopathiás károsodások összefüggésben állhatnak a szemfenéki elváltozásokkal. Feltételezik a Chlamydia pneumoniae szerepét más vascularis eredetű szembetegségek, AION (anterior

ischaemias opticus neuropathia) és arteria centralis retinae oclusio kialakulásában is [8-10]. Először 1988-ban vetették fel az acut myocardialis infarctushoz vezető coronaria betegség és a Chlamydia pneumoniae fertőzöttség kapcsolatát [11], azóta számos közlemény jelent meg, alátámasztandó a korábbi Chlamydia pneumoniae fertőzést, mint ethiológiai tényezőt az artherosclerosis kialakulásában [12-14]. Célszerűnek látszott mindezek miatt a Chlamydia pneumoniae szeropozitivitását vizsgálni AMD-s és koszorúér betegekben egyaránt. A Chlamydia pneumoniae a Chlamydiaceae család Chlamydia genusába tartozik, további két humán patogénnel (Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci) együtt. A Chlamydiák obligát intracelluláris paraziták. A fertőzés során bifázisos fejlődési cikluson mennek keresztül. Fertőző formái, a gazdasejten kívüli ún. elemi testek, melyek adhezinjeik révén tapadnak a célsejt receptoraihoz és endocytosisra kerülnek. Az internalizáció után az elemi testek a phagosomában maradnak és reticularis testekké alakulnak, növekszenek és osztódással szaporodnak. Mintegy 72 órán belül ismét elemi testekké alakulnak, a gazdasejt pusztulását okozva kiszabadulnak és fertőzik a szomszédos sejteket. A folyamat során jelentős szerepet kap a Chlamydia felszínén expresszáldó fehérjekomplex, mely az elemi testek változó antigenitásáért is felelős, elrejtve a Chlamydiát az immunrendszer elől, elősegítve a perzisztáló fertőzés kialakulását [15]. Ezek alapján elképzelhető, hogy a Chlamydia pneumoniae, hasonlóan az artherosclerosis pathogenesisében játszott szerepéhez, az időskori macula degeneratio kialakulásáért is felelőssé tehető. Korábban két kisebb esetszámú, 25 illetve 27 beteget vizsgáló tanulmány jelent meg AMD-s betegek Chlamydia fertőzöttségét illetően, ám a kérdést egyértelműen megválaszolni nem tudták a kis esetszám és a kontrollcsoportól való szignifikáns eltérés hiányában. [16, 17]. A Chlamydia pneumoniae szerepét valószínűsíti, hogy Kalayoglu és mtsai vizsgálatukban (9 beteg) immunhisztokémiai módszerrel kimutatták a kórokozó jelenlétét AMD eredetű membránban [18].

A különböző gyulladáshoz kapcsolódó cytokinek jelentős szerepet játszanak a szemfelszín gyulladáshoz és immunológiai reakcióinak szabályozásában. A szemfelszín által is expresszált cytokineket a szem különböző szöveteiben és nedveiben számos betegség esetében már vizsgálták [19, 20-30], azonban a gyulladáshoz és postoperatív reakciókban játszott pontos szerepük még tisztázásra vár. Az IL-6 pluripotens cytokin a gyulladáshoz mediálásán kívül szerepet játszik a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok csökkentésében és akár a szem immunprivilegiumának helyreállításában is [25, 31-33]. Bizonyos szemészeti betegségek esetében a cytokinek vizsgálata a későbbiekben terápiás beavatkozási konzekvenciákkal bírhat, ezért ezen paraméterek könnyben való vizsgálata fontos célnak tekintendő a klinikumban. A szaruhártya átültetések (perforáló keratoplastica - PKP) súlyos szövődeményének, a kilökődési reakciónak a pathogenesisébe régóta intenzíven kutatott terület. A postoperatív szakban azonban jelenleg még nem ismert a különböző cytokinek jelentősége, mennyiségi és pathológiás változása. Feltételezhető, hogy a különböző cytokinek szintje nemcsak PKP után kialakult rejectio miatt változhat. A varratok okozta irritáció és a postoperatív gyulladás módosíthatja a cytokin szinteket, márpedig mindkét folyamattal számolni kell komplikáció mentes PKP után is [34].

A természetes anticoaguláns mechanizmusok közül a protein-C (PC), protein-S (PS) rendszer az aktivált V és VIII faktorok blokkolása révén fékezi a véralvadási folyamatot. Ehhez a PC-molekula aktiválódása (APC) szükséges. A protein-S ezen folyamatban a kofaktor szerepét tölti be. A PC és a PS mennyiségi és/vagy működési zavara, illetve az aktivált PC támadáspontjainak fokozott ellenálló képessége esetén az anticoaguláns válasz elmaradhat, illetve csökkenhet [35-39]. Míg az előbbi esetek súlyos, de ritka thrombophylia állapotok, addig az APC egyik támadáspontjának, az aktivált V faktornak emelkedett rezisztenciája a leggyakoribb, kevésbé súlyos veleszületett vénás thrombosisra hajlamosító tényező. Átlagos európai előfordulása 4,4%, a magyarországi statisztika szerint pedig 2,7% [36]. Az esetek 90%-ában az V faktor APC-vel szembeni rezisztenciája a faktort szabályozó

gén pontmutációjának a következménye. A mutáció miatt a képződött V faktorban az 506-os arginin aminosav glutammal cserélődik ki, s az így keletkezett megváltozott szerkezetű molekula nehezebben és lassabban inaktiválódik [35-37]. A pontmutációt a felfedezés helyéről Leiden-mutációnak - FV (Leiden) - nevezik, a képződött kóros molekulát FV:Q506-ként jelölik. A hibás gén autoszomális domináns módon öröklődik, a heterozygota állapot enyhébb, a homozygota súlyosabb thrombophylias hajlamot okoz. Általában igaz azonban, hogy önmagában a heterozygota állapot ritkán vezet thrombosishoz, rendszerint valamilyen egyéb, szerzett (pl. orális fogamzásgátló szedése stb.) tényező is szükséges a kialakulásához [35-38]. Veszélyes thrombophylias állapotra elsősorban akkor kell gondolnunk, ha a thrombosis fiatal korban, szokatlan helyen vagy ismételten jelentkezik. Erre példa lehet a szemfenéki erek elzáródása, aminek pontos pathomechanizmusa ma sem ismert. További ilyen jellegű betegség lehet az anterior ischaemiás opticus neuropathia (AION). Az utóbbi években egyre több adat utal arra, hogy a szemfenéki vascularis történések (AION) egy részében szerepe lehet a thrombophylias okozó tényezőknek is [36, 37]. Ezen esetek kiszűrése a terápia, a szekunder prevenció szempontjából döntő jelentőségű.

2. Célkitűzések

Az OTKA pályázatban célul tűztük ki, hogy:

- nagyobb esetszámú beteganyagban megvizsgáljuk a Chlamydia pneumoniae fertőzöttség mértékét AMD-ben szenvedő és koszorúér betegekben. Vizsgálni kívántuk a Chlamydia pneumoniae etiológiai esetleges szerepét a két betegcsoportban, illetve esetleges kapcsolatot feltárni a vascularis betegségek ezen két fajtája között;
- a cytokinek mennyiségének és kiválasztási kinetikájának vizsgálatát pathologias human könnymintákban. Három különböző kór állapotban végeztük el a vizsgálatokat: (1) a postoperatív állapotnál (cataracta és PKP műtéten átesett szemek), (2) corneális idegentest okozta reflexes könnyezésnél, (3) bakteriális conjunctivitis okozta hypersecretionál. Mivel a könny secretios sebessége jelentősen befolyásolja a könnymintákban mérhető fehérjék szintjét, így az IL-6 koncentráció mellett meghatároztuk a két perc alatt gyűjtött könnyben lévő cytokin mennyiséget, melyet a későbbiekben IL-6 release-nek neveztünk. Célunk, hogy a fent részletezett irritatív szembetegségek és postoperatív állapotok esetén az IL-6 release-t összehasonlítsuk a különböző kór állapotokban, valamint kontroll csoporthoz viszonyítva.
- AION-ban szenvedő betegeinkben arra kerestük a választ, hogy milyen arányban fordul elő a ma egyik leggyakoribb thrombosis okozó kockázati tényező, az APC-rezisztencia és az ezt előidéző FV (Leiden)-mutáció.

3. Beteganyag és módszerek

3.1. Alkalmazott beteganyag

A Chlamydia vizsgálatok kapcsán összesen 262 beteget (119 férfi, 143 nő) vizsgáltunk. Közülük 94 beteg (29 férfi, 65 nő: 73,1±9,9 év) senilis macula degeneratióban szenvedett. Összesen 89 beteget (49 férfi, 40 nő: 69,6±9,6 év) kardiológián gondoztak anginás panaszok és igazolt ischaemias szívbetegség miatt (valamennyi beteg diagnosztikus coronarographian esett át). Kontrollcsoportunk 79 betegből állt (69,4±9,9 év), közülük 21 páciens cataracta műtéten esett át, 5 beteget diabeteses retinopathia miatt gondoztunk. Minden betegnél részletes szemészeti vizsgálatot végeztünk: látásélesség vizsgálat (korrigált közeli és távoli visus), réslámpás vizsgálat (Haag-Streit biomikroszkóppal), fundusvizsgálat indirekt, asphaericus (Volk) lencsék alkalmazásával; fundus fotodokumentációja (Zeiss FF 450 IR funduskamera) és fluoreszcein angiographia (FLAG, AngioVision, Medivision) történt. A macula kezdeti érintettségét Amsler teszttel ellenőriztük.

A beteganyagot valamennyi vizsgálatunk során a DEOEC Szemklinika ambulanciája és fekvőbeteg osztályai biztosították. A cytokin vizsgálatokhoz a betegeket négy csoportba soroltuk. Az első csoportba 11 beteg (átlagéletkor: $46,9 \pm 18,3$ év) tartozott, acut bacterialis conjunctivitis diagnózissal. Kötőhártya váladék tenyésztése nélkül, az egyértelmű klinikai tünetek alapján történt a diagnózis felállítása. Könnyminta vétel előtt a betegek nem használtak szemcseppet. A második csoportba 12 cataractás beteg (átlagéletkor: $67,3 \pm 11,4$ év) tartozott, akiktől egy nappal a komplikáció mentes cataracta műtét után, szemcsepp alkalmazása előtt történt a mintavétel. Hét beteg phacoemulsification, öt beteg extracapsularis cataracta extraction esett át, PCL implantációval. A harmadik csoportba 7 beteg (átlagéletkor: $44,3 \pm 7,8$ év) tartozott, akiknél a 12 órán belül szerzett fém corneális idegentest gyulladással járó reakció jelenléte nélkül kifejezett könnyezést váltott ki. Könnyminta vétel előtt a betegek nem kaptak lokális terápiát. A negyedik csoportba 30 perforáló keratoplasticán átesett beteg (átlagéletkor: $54,7 \pm 19,4$ év) tartozott, egy héttel a komplikációmentes műtét után. A műtéti indikációk között keratoconus (9 szem), pseudophakiás bullosus keratopathia (10 szem), cornealis erezettség (6 szem), transplantum rejectio (4 szem) és egy esetben keratouveitis szerepeltek. A donor corneákat maximum egy héttel tároltuk Optisol-GS-ben (Bausch&Lomb, USA). Műtét után a betegek naponta öt alkalommal kaptak corticosteroid (prednisolon acetát) és antibiotikum (neomycin) tartalmú szemcseppet. Három esetben subconjunctivalis steroid injekcióra, öt beteg esetében intravénás vagy orális corticosteroid terápiára volt szükség. A könnymintákat kora reggel vettük, még az első szemcsepp beceppentése előtt. A beteg csoportokon kívül 52 egészséges kontroll (átlagéletkor: $54,8 \pm 21,9$ év) könnymintáinak vizsgálatát is elvégeztük. A vizsgálatba bevont személyek nem szedtek olyan gyógyszert, ami befolyásolta volna a könnytermelést, valamint immunológiai eredetű betegségben sem szenvedtek.

Klinikánkon 1997 márciusától 2001 júliusáig összesen 20 AION-os beteget, 10 nőt és 10 férfit vizsgáltunk. A páciensek átlagéletkora a betegség kezdetekor 63,3 év, a legfiatalabb 52, a legidősebb 80 éves volt. Az első észlelés alkalmával rögzítettük a betegség kialakulásának körülményeit, a kísérőbetegségeket, illetve a szedett gyógyszereket. Minden beteg esetén meghatároztuk a korrigálatlan és a legjobban korrigált visust, valamint standard látótérvizsgálatot végeztünk. Ha a visusérték lehetővé tette, komputeres, automata perimetriás (AP-340 Kowa), ha nem, akkor Kugel-féle kinetikus perimetriás vizsgálatot alkalmaztunk. Detektáltuk a kritikus fúziós frekvencia értékeket is, amint az első héten minden nap megismételtünk, illetve ugyancsak naponta néztük a szemfenéki képet direkt ophthalmoscop, illetve 90 dioptriás, aszferikus lencse segítségével, majd 1, 3 és 6 hó múlva megismételtük ezeket a vizsgálatokat. Minden esetben színes fundusfotókat készítettünk. Tiszta törőközegek esetén fluorescein angiographiás (FLAG) vizsgálatot is végeztünk. A szemtünetek jelentkezését követően egy hónapon belül a nyaki nagyerek duplex ultrahangos vizsgálatát is elvégeztettük, koponya-CT vel és MRI-vel, továbbá echocardiographiával kiegészítve.

Valamennyi klinikai vizsgálat a Helsinki Deklarációt betartva, a helyi etikai bizottság engedélyével és a betegek írásos beleegyezésével történt.

3.2. Alkalmazott módszerek

A cytokin vizsgálatokhoz stimulálás nélkül steril üvegkapillárisba gyűjtöttük a könnymintákat az alsó könnyemeniscusból, ügyelve arra, hogy a szemfelszínt és a szemhéjat ne érintsük. A mintavételi idő minden esetben pontosan 2 perc volt, a levett könny mennyiségét feljegyeztük. A könnymintákat felhasználásig, 1-90 nap közötti időtartamra, -80 °C-ra fagyasztottuk le. A könnyminták fagyasztva tárolása után összfehérje (TP) (bichinonic acid protein-assay kit, Rockford, IL, U.S.A.), majd interleukin-6 koncentráció meghatározását végeztük el (ultraszenzitív ELISA; érzékenység: <0.1 pg/ml, BioSource International, Inc. Nivells, Belgium) a gyártó használati utasítása szerint.

A *Chlamydia pneumoniae* specifikus IgG és IgM antitest meghatározása a Szegedi Tudományegyetem Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézetében történt. Az antitestek kimutatására kétlépéses MIF-módszert (MRL Diagnostics, Cypress, California, USA) alkalmaztunk. A kórokozóspezifikus IgM meghatározásakor a savómintákat anti-humán IgG tartalmú PBS (phosphate buffered saline) oldattal előkezeltük, majd tárgylemezre fixált elementáris testekre cseppentettük az 1:10 arányban hígított savómintát. Inkubálás és PBS-sel történt mosás után második lépésben FITC (fluoreszcein-izotiocianát) jelölt anti-humán IgM-et cseppentünk a tárgylemezre. Inkubálás, mosás és szárítás után a tárgylemezeket fluoreszcenciamentes glicerin oldattal és fedőlemezzel fedve Olympus BH-2 fluoreszcens mikroszkóp alatt, 400x nagyítással fluoreszcenciamentes immerziós olaj használatával vizsgáltuk. A kórokozó specifikus IgG meghatározás során előkezelés nélkül 1:16 savóhígítással fedtük az elementáris testeket és második lépésben FITC jelölt anti-humán IgG-vel festettük azokat, majd a fent leírt módon fluoreszcens mikroszkóp alatt értékeltük a mintákat. A *Chlamydia pneumoniae* fertőzésnek négy formája ismert. Akut, első fertőzés esetén a szérumban IgM és IgG titer is emelkedett. Krónikus fertőzés esetén az IgG emelkedett, az IgM nem mérhető. Reinfekció/reaktiváció esetén az IgG nagyobb mértékben emelkedett, mint krónikus fertőzés esetén, az IgM negatív. Gyógyult fertőzés esetén („seroscar”) az IgG kis mértékben emelkedett. Ennek megfelelően láttuk el mintáinkat „primer, akut fertőzés” vagy „fertőzésen átesett” jelzővel, ez utóbbi eseteket nem osztottuk további kategóriákra. A mikrobiológiai vizsgálat értékelése során a betegek egy része egyértelmű pozitív vagy negatív eredmény helyett „határeset” megjelölésű leletet kapott.

Az AION-ban szenvedő betegekben meghatároztuk a rutin laboratóriumi vizsgálatok (vérkép, vérsüllyedés, ionok, vesefunkció, májfunkció vizsgálata) mellett, a haemostasist szűrő teszteket (prothrombin-idő: PI; aktivált parciális thromboplastin-idő: APTI; thrombin-idő: TI; és fibrinogénszint, APC-rezisztencia) is. Az APC-rezisztencia fenotipizálására a Coatest® APCTM Resistance klasszikus tesztet használtuk, melyet a Trio-lab Kft., ChromogeniX cég protokollja szerint alkalmaztunk. A klasszikus teszt során az APC-rezisztencia rátájának meghatározása két APTI-idő méréssel történik. Az egyik a vizsgálni kívánt plazmához adott APC jelenlétében, a másik anélkül. A két alvadási idő közötti különbség hányadosa az APC-rezisztencia hányados vagy ráta (58). A pozitív esetekben a Leiden-mutáció esetleges meglétét molekuláris genetikai vizsgálattal igazoltuk. A potenciálisan kóros DNS-darabot polimeráz-lánreakció (PCR) segítségével megsokszoroztuk. A keletkezett terméket restriktív endonukleázzal emésztettük és a keletkezett hasítási fragmentumokat agarózgél elektroforézissel választottuk szét (55, 58).

3.3. Statisztikai vizsgálatok

Valamennyi esetben (betegcsoportban) meghatároztuk az átlagot és a szórást (SD). A különböző betegcsoportok eredményeit egymással, valamint a normál kontrollokkal hasonlítottuk össze. A statisztikai analízist Student féle t próbával, lineáris regresszióval végeztük. A statisztikai elemzésnél STATA Version 8.2-t használtunk. A szignifikancia kritériuma $\alpha=0.05$ volt. A változókat a normalitás javítása céljából mindig a legjobb hatást elérő módszerrel transzformáltuk.

Az cytokin vizsgálatok során a kort, az összfehérjét, az IL-6 release-t, valamint ezek arányait logaritmusosan transzformáltuk. A könnytérfogatot és az IL-6 koncentrációt négyzetgyök-transzformáltuk. A koncentrációt életkorra és a levett könny mennyiségére igazítottuk. A release értékeket életkorra korrigáltuk.

4. Eredmények

4.1. Chlamydia fertőzés és a senilis macula degeneratio

Három betegcsoportunk közül a kardiológiai betegek átlagéletkora és a kontroll csoportot alkotó cataracta műtéten átesett vagy diabeteses retinopathia miatt gondozott betegek átlagéletkora nem különbözött szignifikánsan. A 94 beteget tartalmazó időskori macula degeneratióban szenvedő csoport átlagéletkora kissé, de szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt, itt a szórás is nagyobb, a legfiatalabb beteg életkora 51 év, míg a legidősebbé 91 év volt.

IgM és IgG titer vizsgálatok eredményeit a 2. táblázat mutatja. Az AMDs betegcsoportban a vizsgált szérumminták közül Chlamydia specifikus IgM-re mind a 85 esetben negatív, 4 esetben „határeset” eredményt kaptunk azaz egyetlen betegnél sem zajlott akut fertőzés a vizsgálat idején. Kórokozó specifikus IgG vonatkozásában 67 esetben (71,3%) pozitív, 16 esetben (17,0%) határeset és 11 esetben (11,7%) negatív eredményt kaptunk. Tehát 94 betegből 83 esett át korábban Chlamydia pneumoniae fertőzésen.

A második, kardiológián gondozott betegcsoportban a vizsgált szérumok közül 4 kivételével mindegyik (85 minta) negatív volt anti-Chlamydia IgM-re, ez előbbi „határeset” volt. Chlamydia specifikus IgG-t vizsgálva 58 pozitív (65,2%), 14 határeset (15,7%) és 17 negatív (19,1%) leletet kaptunk. Tehát 89 esetből 72 beteg fertőződött korábban Chlamydia pneumoniae kórokozóval, akut fertőzése egy betegnek sem volt.

A harmadik, kontroll csoportban a 79 vizsgált minta közül specifikus IgM pozitivitást 5 esetben találtunk /pozitivitást (2 eset) vagy határesetpozitivitást (3 eset)/. A többi 74 minta negatívnak bizonyult. Kórokozó specifikus IgG pozitívnak 44 minta (55,7%) bizonyult, míg 18 minta határesetnek (22,8%), 17 pedig negatívnak (21,5%) adódott. Tehát a kontroll csoport két betegének a vizsgálat idején akut infekciója zajlott, 62 beteg pedig korábban átesett a fertőzésen.

A statisztikai összehasonlítás kapcsán (Wilcoxon teszt), mind a kardiológiai betegcsoportot, mind az AMDs betegcsoportot szignifikánsan nagyobb mértékben találtuk Chlamydia fertőzöttnek.

2. táblázat Anti-Chlamydia pneumoniae antitest titerek a különböző betegcsoportokban

anti C. Pneumoniae antitest		Kardiológiai betegek (n=89)	AMDs betegek (n=94)	Kontroll (n=79)
IgM	negatív	85 (95.5%)	88 (93.6%)	74 (93.7%)
	határeset	4 (4.5%)	6 (6.4%)	3 (3.8%)
	pozitív	0 (0%)	0 (0%)	2 (2.5%)
IgG	negatív	17 (19.1%)	11 (11.7%)	17 (21.5%)
	határeset	14 (15.7%)	16 (17.0%)	18 (22.8%)
	pozitív	58 (65.2%)*	67 (71.3%)*	44 (55.7%)

* $p < 0,05$ a kontrollhoz képest.

4.2. A könny interleukin tartalmának változása a szem elülső szegmentumának betegségeiben

A két perc alatt gyűjtött könnyminták mennyisége 2.2 μ l és 121.7 μ l között változott, mely különbség 55-szörös. A két perc alatt gyűjtött könny mennyiségét, a könny teljes fehérje (TP) koncentrációját és release-t, az IL-6 koncentrációt valamint a release-t a különböző betegcsoportokban, valamint a kontrolloknál az 1. táblázat tartalmazza.

Egészséges kontrolloknál az IL-6 koncentráció 110 \pm 142 pg/ml volt. Szignifikánsan magasabb volt az átlagos IL-6 koncentráció a conjunctivitis csoportban és a PKP csoportban (p<0.001 és p=0.040).

Az IL-6 release az összes betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál melyet az 1. ábra mutat be (cataracta csoport: p=0.003; többi csoport: p<0.001). IL-6 release esetében a csoportok között nem volt szignifikáns különbség.

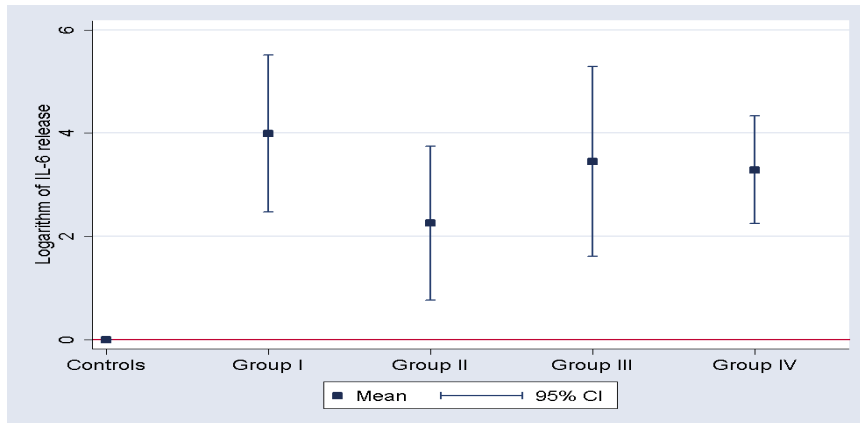
Megvizsgáltuk az IL-6 release és a TP release arányát a különböző betegcsoportokban és összehasonlítottuk a kontrolloknál számolt aránnyal. A IL-6/TP release arány az összes betegcsoportban szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál (conjunctivitis: p=0.010, cataracta: p=0.048, corneális idegentest: p=0.007, PKP: p=0.002) (2. ábra). A IL-6/TP koncentráció arány a conjunctivitis csoportnál (p=0.041) és a cornealis idegentest csoportnál (p=0.029) volt szignifikánsan magasabb a kontrollokéhoz képest.

1. táblázat. Két perc alatt gyűjtött könny mennyiség, összfehérje (TP) és Interleukin-6 (IL-6) koncentráció és release (átlag \pm SD).

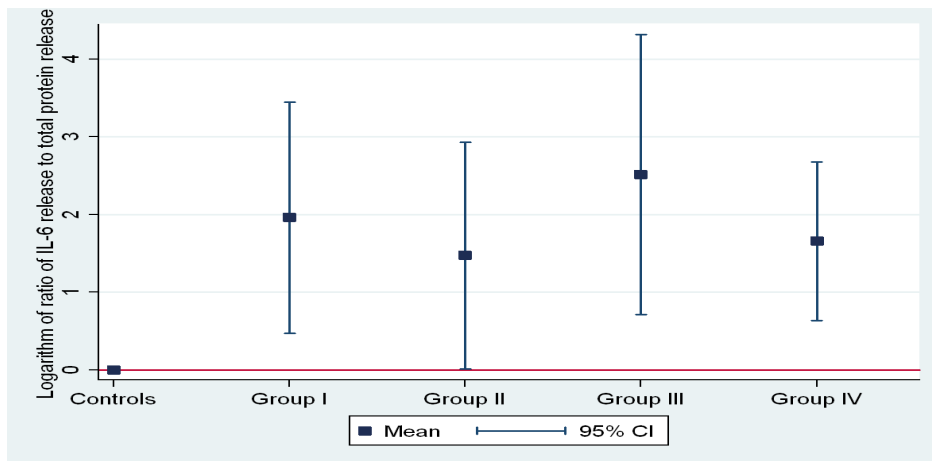
	Könnytérfogat (μ l)	TP (μ g/ μ l)	P érték	TP release (μ g)	P Érték	IL-6 (pg/ml)	P érték	IL-6 release (pg)	P érték
Conjunctivitis	48,7 \pm 36,9	8,9 \pm 4,2	*0,021	481 \pm 600	*0,001	366 \pm 296	*0,001	20 \pm 21	*0,001
Cataracta	23,9 \pm 10,3	4,1 \pm 2,9	0,176	104 \pm 94	*0,001	189 \pm 184	0,105	5,0 \pm 5,2	*0,003
Cornea idegentest	55,1 \pm 24,6	2,4 \pm 1,5	*0,045	109 \pm 61	*0,002	109 \pm 72	0,184	6,3 \pm 4,6	*0,001
PKP	57,6 \pm 35,0	5,1 \pm 4,2	0,789	253 \pm 248	*0,001	170 \pm 235	*0,040	6,6 \pm 6,7	*0,001
Kontroll	6,2 \pm 3,1	8,3 \pm 5,9		42 \pm 24		110 \pm 142		0,57 \pm 0,73	

P-érték: az eltéréseket az egyes betegcsoportokban a kontrollokhoz képest, korra és szükség szerint könnytérfogatra korigálva mutatja.

1 ábra. A két perces IL-6 release a betegcsoportokban, a kontrollok értékéhez viszonyítva.



2 ábra. A két perces IL-6/TP release arány a betegcsoportokban, a kontrollok értékéhez viszonyítva.



4.3. Protein C rezisztencia és az elülső ischaemiás opticus neuropathia

A betegek átlagéletkorában, az AION kialakulásának bekövetkeztekor, a szisztémás predisponáló tényezők előfordulási gyakoriságában, az ismert thrombosis hajlam szempontjából nem volt különbség. Egyik betegnél sem szerepeltek helyi predisponáló tényezők és abnormálisan magas heamatokrit-érték, vagy extrém módon emelkedett szérumszint, súlyos fokú anaemia sem.

Betegeinken a leggyakrabban előforduló kísérőbetegség a hypertonia essentialis volt, számszerűleg a vizsgáltak közül 8 betegnek volt kezelt magasvérnyomás-betegsége a szemtünetek kialakulásakor. Diabetes mellitusban 6 betegünk szenvedett. Közülük egy kivételével mindannyiuknak ismert és kezelt, nem-inzulindependens diabetes mellitusa volt. Két páciensünknek volt ischaemiás szívbetegsége (ISZB), egyiküknek közülük már volt elülső falis infarctusa. Két esetben három, négy esetben pedig két kísérőbetegség együttesen is fennállt. Egy nőbetegünknek ismert és kezelt kevert kötőszöveti megbetegedése is volt: egy páciensünk súlyos arteriosclerosis universalisban szenvedett.

A vizsgált 20 betegünk közül 6 esetben (az eseteink 30%-ban) bizonyult pozitívnak az APC-rezisztencia vizsgálata. Az APC-rezisztencia tekintetében pozitív betegeinken a Leiden-féle mutáció is minden esetben kimutatható volt. Mind a 6 betegünk Leiden-mutáció tekintetében heterozygotának bizonyult. Az e tulajdonság tekintetében heterozygota betegeink legfontosabb haemostasis-adataiból kiemeljük, hogy a prothrombinidő (PI), a thrombinidő (TI), továbbá az aktivált parciális thromboplastinidő (APTI) a normális kontrollhoz képest alig/vagy nem mutatott lényeges eltérést. A fibrinogénszintek minden esetben a nemzetközileg is elfogadott normáltartományon belüliek voltak, melyek számszerű értékei 1,5-4,0 g/l között mozogtak (3. táblázat).

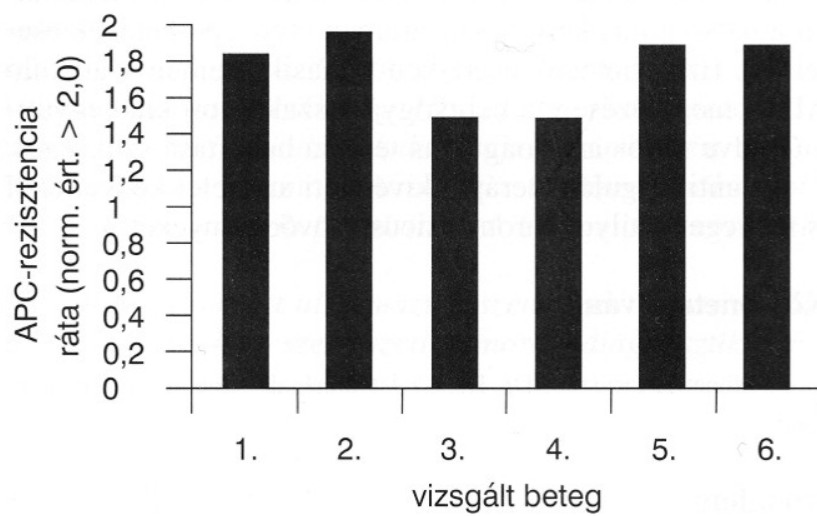
A heterozygota betegek APC-rezisztencia ráta eredményeit a 3. ábrában összegeztük. Egészséges egyéneknél a ráta normálértéke 2-5 közé esik. Heterozygota eseteinkben az 1-es, 2-es, az 5-ös és a 6-os számmal jelzett betegek esetében ez az érték éppen a normálérték alattinak bizonyult. Ellenben a 3-as, 4-es számmal jelzett esetekben az APC-rezisztencia ráta értéke lényegesen alacsonyabb volt, mint a normálérték. Az emboliaforrás felkutatására echocardiographiát, illetve a nyaki nagyerek duplex ultrahangos vizsgálatát indikáltuk.

Az elvégzett echocardiographia alapján egy betegen detektáltunk tágabb bal pitvart (44 mm) normális tágasságú bal kamra (32-52 mm) és jó systoles bal kamrai funkció mellett (ejekciós frakció: 62%). Ennél a betegünkönél az elvégzett transoesophagealis echocardiographia során az aortaívben és az aorta descendens kezdeti szakaszán 2-3 meszes plaque-ot detektáltunk, melyek közül egy kifejezetten bedomborodott az aorta üregébe, és rajta esetleges emboliaforrásként szereplő thrombus jelenléte sem volt kizárható. Szintén egy betegen észleltünk echocardiographia segítségével a szív apicalis részén, annak infarcerálódott, akineticus falán golyóthrombust, mely szintén lehetett embóliaforrás is. Betegünket kardiológus javaslatára azonnal, tartós anticoaguláns kezelésben részesítettük. A nyaki erek duplex ultrahangos vizsgálata során az esetek döntő többségében enyhefokú intimasclerosist észleltünk. Az elvégzett koponya-CT-vizsgálatok során organikus, illetve kiterjedt vascularis laesiót nem találtunk. Agyi MRI során 2 betegen észleltünk agytörzsi, multiplex, microembolisationak megfelelő lágyulások góccokat.

3. táblázat. APC-rezisztencia szempontjából pozitív és a Leiden-mutáció tekintetében heterozygota betegek haemostasis-eredményei

	PI/kontroll (sec)	TI/kontroll (sec)	APTI/kontroll (sec)	Szérumfibrinogén (g/l)
1.	9,7/9,7	14,4/16,8	31,6/35,2	3,49
2.	11,5/9,6	20,4/19,6	36,9/33,9	3,67
3.	9,3/9,5	14,9/14,8	34,6/34,8	3,86
4.	8,6/9,2	15,7/14,5	27,9/33,3	3,04
5.	11,0/10,4	18,0/15,7	35,0/33,3	2,23
6.	10,3/10,3	15,8/15,0	36,8/32,9	3,14

1-6: a heterozygotának talált betegeink haemostasis-eredményei; PI: protrombin-idő; TI: thrombin-idő; APTI: aktivált parciális thromboplastin-idő



3. ábra. Az APC rezisztencia ráta a hat Leiden-mutációs (heterozygota) beteg esetében

5. Következtetések

5.1. *Chlamydia fertőzés és a senilis macula degeneratio*

Az időskori macula degeneratio (AMD) a csökkent látásélesség és vakság egyik vezető oka a fejlett társadalmakban. A kórkép gyakorisága az életkor előrehaladtával növekszik, hetven éves kor felett ugrásszerűen megemelkedik a megbetegedések száma. Az átlagéletkor emelkedésével előfordulása a hazai társadalomban is növekszik, lényegesen rontva az idősebb populáció életminőségét. Számos közleményt találhatunk a betegség hajlamosító tényezőire vonatkozóan [2, 3] és több feltételezett rizikófaktort ismerünk [4-7, 40] a folyamat etiológiája azonban közel sem tekinthető tisztázottnak. Mivel a kórkép therapiás lehetőségei jelenleg igen korlátozottak és csupán a megmaradt látásélesség esetleges megőrzésére van mód, ezért a folyamat ethiopathogenesisének tisztázása elengedhetetlen egy, a befolyásolható rizikótényezőkre vonatkozó prevenció stratégia kidolgozásához.

A hypertensio, hypercholesterinaemia és arteriosclerosis mind a cardiovascularis megbetegedéseknek, mind az időskori macula degeneratio rizikófaktora [4, 5]. Az acut myocardialis infarctushoz vezető coronaria betegség és a *Chlamydia pneumoniae* fertőzőtség kapcsolata az 1980-as évek vége óta ismert [11-14], emellett feltételezik a *Chlamydia pneumoniae* szerepét más, vascularis eredetű szembetegség, az AION és az arteria centralis retinae occlusio kialakulásában is [8, 9, 41]. Ezek alapján elképzelhető, hogy a *Chlamydia pneumoniae* az időskori macula degeneratio kialakulásáért is felelőssé tehető. Korábban két kisebb esetszámú, 25 illetve 27 beteget vizsgáló tanulmány jelent meg a felvetéssel kapcsolatban [16, 17], ám a kérdést egyértelműen megválaszolni nem tudták a kis esetszám és a kontrollcsoporttól való szignifikáns eltérés hiányában. Alátámasztja azonban a *Chlamydia pneumoniae* szerepét, hogy immunhisztokémiai módszerrel már kimutatták a kórokozó jelenlétét AMD eredetű membránban [18].

A *Chlamydia pneumoniae* a szervezetbe kerülve immunreakciót vált ki, a termelt specifikus antitestek kimutatásával igazolhatjuk az átvészelt fertőzést. Akut, első fertőzésről beszélünk, ha a szérum IgM és IgG titere is emelkedett. Krónikus fertőzés, reinfekció/reaktiváció és gyógyult fertőzés esetén az IgG emelkedett, az IgM nem mérhető. Jelen munkánk célja az volt, hogy megvizsgálja nagyobb esetszámú beteganyag *Chlamydia pneumoniae* fertőzőtségének mértékét és ez alapján következtetéseket vonjon le az időskori macula degeneratio kialakulásában betöltött szerepéről.

A korábban átvészelt fertőzés kimutatására irányuló specifikus IgG antitest meghatározás során azt tapasztaltuk, hogy igen magas a vizsgált beteganyag *Chlamydia pneumoniae* átfertőződése. Az AMD-ben szenvedő betegcsoportban 67 esetben (71,3%) pozitív, 16 esetben (17,0%) határeset és 11 esetben (11,7%) negatív eredményt kaptunk. A kardiológián gondozott betegcsoportban 58 minta pozitív (65,2%), 14 határeset (15,7%) és 17 negatív (19,1%) volt. Relatív magas volt *Chlamydia pneumoniae* infekción átesettek aránya a kontroll csoportban is, de ezek az értékek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak, mint az AMD vagy a kardiológiai csoportok értékei.

Ezen eredmények a 70 év feletti lakosság igen nagymértékű *Chlamydia pneumoniae* magas átfertőzöttségét bizonyítják. Az is egyértelmű, hogy mind az AMD-ben szenvedő betegek, mind a koszorúér betegek csoportjában igen magas a fertőzésen átesettek aránya (88, illetve 81%), továbbra is felvetve a *Chlamydia pneumoniae* fertőzőtség rizikótényező voltát. A kontroll csoportban észlelt alacsonyabb szeropozitivitás arány alátámasztani tűnik a kórokozó patológiás szerepét az AMD és a coronaria betegség kialakulásában.

Mindezek alapján feltételezhető, hogy a *Chlamydia pneumoniae* az egyéb rizikótényezők hatását felerősítve/fokozva, együttesen hajlamosíthat az AMD kialakulására. Az ISZB klasszikus rizikófaktoraik és a *Chlamydia pneumoniae* fertőzés kapcsolatát vizsgálva ugyanis kiderült, hogy míg infekció nélkül egy vagy két rizikótényező jelenléte nem emelte a kockázatot, addig a krónikus fertőzöttség és egy-két hagyományos kockázati tényező

együttesen már jelentősen növelte a betegség kialakulásának esélyét (41). Mindezek alapján célszerű a jövőben az eddig ismert rizikótényezők együttes előfordulásának felmérése (rizikó stratifikáció) az AMD-s betegcsoportban is, hasonlóan a koszorúér betegség kapcsán ajánlott nemzetközi és hazai therápiás útmutatókhoz.

Az AMD kialakulásának infekciós hipotézisét megerősítik saját beteganyagunkon talált eredményeink. Ugyanakkor még további klinikai adatok szükségesek nagyobb hazai beteganyagban, illetve a Chlamydia fertőzöttség mellett az egyéb gyulladáshoz vezető faktorok vascularis endothel károsító szerepe is tisztázásra szorul.

5.2. A könny interleukin tartalmának változása a szem elülső szegmentumának betegségeiben

A cytokinokkal kapcsolatos vizsgálatunk megerősíti, hogy az IL-6 az egészséges emberi könnyben is megtalálható. Bár a használt ELISA szenzitivitása azonos volt (<0.1 pg/ml), vizsgálatunk során magasabb koncentrációt mértünk a kontrolloknál (110 pg/ml vs. 42.1 pg/ml), mint Tishler és mtsai [24]. Számos szerző korábban nem detektált IL-6-ot normál könnyben, melyet a nem megfelelő szenzitivitás okozhatott [26, 30, 43]. Gyulladáshoz vezető jelek nélküli egészséges szemeknél tapasztalt relatíve magas IL-6 szint a szemfelszín homeosztázisának fenntartásában játszhat szerepet [42].

Egészséges kontrolloknál Nakamura [42] 230 pg/ml IL-6 koncentrációt mért a stimulálás nélkül és 12 pg/ml koncentrációt a stimulálás mellett gyűjtött könnyben. A stimulálás nélkül gyűjtött könny mennyiségében tízszeres különbség volt (2-20 μ l), melyet nem vettek számításba. A szemfelszíni epithelium által termelt fehérjék esetében a könny szekréciónak sebessége nagyban befolyásolja a vizsgálandó mediátorok koncentrációját, mert a könny bizonyos esetekben hígítja, kimossa a fehérjéket, csökkentve a protein koncentrációt [44, 45]. Csak a könny szekréciónak sebességének ismeretében lehet a könnyben lévő anyagok koncentrációját kiértékelni [45]. Jelen vizsgálatunkban a két perc alatt gyűjtött könny mennyisége szignifikánsan több volt a betegcsoportoknál, mint a kontrolloknál. A különböző irritatív szembetegségek és postoperatív állapotok esetén a betegcsoportokon belül az egyes betegektől gyűjthető könny mennyiségében is igen nagy volt a különbség, mely az egyéni érzékenységtől, valamint a betegség stádiumától is függ. Ennek figyelembe vétele így indokolt, és csak a könny mennyiségével korrigált értékek adhatnak valóban összehasonlítható adatokat. Ezért számoltuk ki az IL-6 koncentráció mellett a release értékeket, mely kalkulál a különböző könnytérfogati különbségekkel, így a betegek értékei már megbízhatóan összehasonlíthatóak egymással és az egészséges kontrollokéval is.

Barton két lehetséges okkal magyarázta a könnyben lévő emelkedett cytokin koncentrációt: egyrészt a szemfelszíni epithelialis és gyulladáshoz vezető sejtek általi fokozott szekréciónak, release-nak, másrészt pedig csökkent könnyelfolyással [46]. Mivel ez a két tényező nem választható szét a könnygyűjtés közben, így a pontos gyűjtési idő nagy jelentőséggel bír, különösen a nem stimulált könnyeknél.

A könny szekréciónak sebességével korábban Malecaze is kalkulált, és emelkedett „IL-6 flux” rátát (29.3-693 pg/min) közölt photorefractív keratectomia után. Azonban a jelen vizsgálat IL-6 release értékeit számos korábbi cikk eredményeivel nem tudjuk összehasonlítani, mert csak az abszolút fehérje koncentrációt közlik, sokszor az időegység alatt levett könny mennyiséget és a gyűjtési időt sem említve [24, 26, 30, 42, 43].

Jelen vizsgálatunk során a patológiás könny három alaptípusát vizsgáltuk, mellyel részben a komplikációmentes, érzetlen recipiensnél végzett perforáló keratoplastikát kívántuk modellezni: (1) A keratoplastica utáni postoperatív állapot mindig együtt jár a kötőhártya ereinek megnövekedett permeabilitásával, és így a plasma proteinek könnybe történő transudációjával. Ez különböző ideig és mértékben tart. Ilyen megfontolásból vizsgáltunk az egy nappal a cataracta műtéten átesett betegeket. (2) Komplikációmentes

perforáló keratoplastica után gyakran észlelhető kifejezett könnyezés a varratok irritáló hatása miatt, így cornealis idegentest miatt könnyező szemeket is bevontunk a vizsgálatba. (3) A keratoplasticát követő időszakban bár ritkán fordul elő gyulladás, azonban az elfedheti a cornealis rejectio immunológiai jellegzetességeit. Mivel a bacterialis gyulladás a cytokinek produkcióját nagyban növeli, ezért az acut bacterialis conjunctivitis mint pozitív kontroll is be lett vonva a kutatásba. Jelen vizsgálatunk során a perforáló keratoplasticán átesett betegeken kívül ezt a három, a szem elülső szegmentumát érintő betegséget vizsgáltuk meg, demonstrálva az IL-6 release változásait.

A kontroll csoporthoz képest jelentősen emelkedett IL-6 release volt megfigyelhető valamennyi betegcsoportban, azonban az IL-6 koncentrációja csak acut bacterialis conjunctivitisnél és egy héttel a komplikációmentes keratoplastica után volt szignifikánsan magasabb. A betegcsoportok között szignifikáns különbséget az IL-6 release tekintetében nem találtunk, aminek valószínű magyarázata a csoportok relative kis létszáma is lehetett.

Az IL-6 a keratociták kollagén szintézisét, valamint a corneális epithelialis gyógyulást is elősegíti [23], így a perforáló keratoplastica után tapasztalt jelentősen megemelkedett IL-6 release a normális gyógyulási folyamatot jelzi. A perforáló keratoplasticát követő immunológiai történések és a kilökődési reakció bár intenzíven kutatott területek, számos kérdés még tisztázásra vár [34, 47, 48]. A cytokinek jelentősége, normális és patológiás szintje a postoperatív időszakban szintén nem pontosan ismert. Az IL-6 az intraocularis és a szemfelszíni gyulladással járó folyamatokban is fontos mediátor [20, 21, 29-32]. PKP-t követő endothelialis rejectiónál magas IL-6 szintet mértek csarnokvízben [28], ugyanakkor magas a corneában lévő IL-6 szintje gyulladással járó jelek esetén is [21].

Vizsgálatunk azt bizonyítja, hogy az IL-6 nemcsak a szemfelszíni gyulladásokban, hanem postoperatív állapotokban, így PKP-t követően is fontos szerepet játszik. A legmagasabb IL-6 release értéket az acut bacterialis conjunctivitis esetén kaptuk, amellett, hogy valamennyi betegcsoportban szignifikánsan magasabb értékeket kaptunk a kontrollokéhoz képest. Az IL-6/TP release arány is valamennyi betegcsoportnál szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrolloknál. Eredményeink jelezhetik, hogy egy nagyobb betegszámú vizsgálat lehetőséget adna a csoportok között is szignifikáns különbséget találni. Az IL-6 a korai postoperatív időszakban, így PKP után is, jelezhetné a különböző gyulladással járó történéseket. A különböző betegcsoportokban tapasztalt magas IL-6 release részben a magasabb könny szekréciónak köszönhető. Ezért nemcsak a cytokin koncentrációt mértük meg, hanem a két perc alatt gyűjthető könny mennyiségben lévő mennyiségét is kiszámoltuk. Vizsgálatainkból arra következtethetünk, hogy a fehérje release sokkal megbízhatóbb indikátor a helyileg képződött fehérjékben történő változások követésére, mint a koncentráció, különösen akkor, amikor a könny szekréciós sebessége jelentősen eltér. További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy meghatározzuk a PKP-t követő korai és késői postoperatív szakban az IL-6 szintjét, és esetleges szerepét a szaruhártya átületetéseket követő kilökődési reakcióban.

5.3. Protein C rezisztencia és az elülső ischaemias opticus neuropathia

Az elülső ischaemias opticus neuropathián belül két fő csoportot különböztetünk meg, az óriássejtes arteritises, illetve a non-arteritises formát. Az előbbit az arteria temporalisra lokalizálódó vasculitis, az utóbbit a lamina cribrosa táji, a nervus opticus vérellátását biztosító aa. ciliares posteriores brevesekben létrejövő multiplex embolisatio következtében kialakuló vérellátási zavar okozhatja [38, 49, 50]. Az érintett artériákban a perfúziós nyomás jelentősen csökken és a lamina cribrosa kisereinek autoregulációja is károsodik [49, 51]. Emboliaforrásként szerepelhetnek pl.: aneurysma cordis, a. carotis stenoticus plaque-ja, alsó végtagi mélyvénás thrombosis. Ezen történések következményeképpen enyhe, vagy az esetek túlnyomó részében súlyos és legtöbbször tartós visusromlás alakul ki. A látásromlás akut,

adekvát terápia nélkül többnyire véglegesnek tekinthető és az esetek 30-50%-ában mindkét szemén kialakul.

Vizsgálataink során 4 év alatt összesen 20 AION-os beteget kezeltünk. A nemek különbözősége nem befolyásolta a betegség kialakulását. Az AION diagnózisát a hirtelen kialakuló, többségében a reggeli órákban jelentkező visusromlás, a jellegzetes fundus-elváltozások, a relatív afferens pupillaris eltérés megléte, jellegzetes látótérkiesések alapján állítottuk fel [51-54].

Az APC-rezisztencia pozitívítása azáltal, hogy egy génmutációt követően a kóros V faktor fehérje is inaktiválódik, egy relatíve enyhe hypercoaguabilis állapotot idéz elő. Ezért a thrombosis, illetve az embolisatio kialakulásához APC-rezisztencia tekintetében pozitív egyéneknél egyéb genetikai és/vagy szerzett rizikótényezők is szükség van. Betegeinknél kísérőbetegségként diabetes mellitus, hypertonia essentialis, ischaemiás szívbetegség (ISZB) és myocardialis infarctus utáni állapot fordultak elő. A leggyakoribb rizikófaktor a dohányzás, az emelkedett szérumszint, obesitas stb. voltak. Az eredményeink alapján érdemesnek tűnik AION-ban szenvedő betegeket APC-rezisztenciáját vizsgálni. A vizsgált betegek 30%-ában heterozygota állapotot találtunk. Ezen betegek coagulopathiára való hajlama bizonyított, ezért a másik szem szoros obszervációja elengedhetetlen. Úgy véljük, hogy ezen 6 beteg esetén a thrombophil állapot okozhatta, illetve nagymértékben hozzájárulhatott az aa. ciliaris posteriores brevesekben a microthrombusok, microembolusok kialakulásához, de legalábbis rizikófaktorként mindenképpen alapvető szerepet játszhatott az anterior ischaemiás opticus neuropathia kialakulásában. Napjainkban a kórforma pontos folyamata még nem ismert. Az általunk elvégzett és javasolt vizsgálatok során kapott eredmények azonban közelebb vihetnek bennünket a pathofiziológiai történések tisztázásához.

Eredményeink alapján a szemész szakorvosok figyelmét szeretnénk felhívni arra, hogy az aktivált protein-C rezisztencia vizsgálatok elvégzése fontos lehet, különös tekintettel a hátsó pólus keringészavaraiban szenvedő betegek eseteiben. Ezen betegek eseteiben a másik szemén kialakuló AION megelőzésére a belgyógyász szakorvosokkal együttműködve tartós anticoagulans terápia beállítása szükséges. Az anticoagulans terápia kivédheti az életet közvetlenül is fenyegető súlyos thromboticus szövődményeket is.

6. Új eredmények

- Chlamydia titer vizsgálataink alapján a kontrollcsoportban észlelt alacsonyabb szeropozitivitási arány alátámasztja a Chlamydia pneumoniae patológiás szerepét az AMD és a coronaria betegség kialakulásában. Mindezek alapján feltételezzük, hogy a Chlamydia pneumoniae az egyéb rizikótényezők hatását felerősítve/fokozva, együttesen hajlamosíthat az AMD kialakulására.
- Vizsgálataink azt bizonyították, hogy az IL-6 nemcsak a szemfelszíni gyulladásokban, hanem postoperatív állapotokban (így PKP-t követően) is fontos szerepet játszik az inflammatorikus folyamat ethiopathogenesisében. A postoperatív időszakban (PKP) az IL-6 release korai markere a gyulladásos folyamatoknak.
- AION-ban szenvedő betegek jelentős részénél igazoltuk az aktivált protein-C rezisztencia és a Leiden-mutáció jelenlétét. Feltételezzük, hogy ezen betegeknél a thrombophil állapot hozzájárult a vascularis opticus neuropathia kialakulásához (microthrombusok, microembolusok keletkezéséhez). Eredményeink felhívják a figyelmet az aktivált protein-C rezisztencia vizsgálatok elvégzésének fontosságára és pozitív esetekben az anticoaguláns therápia beállítására (a kontralaterális szem védelmére).

Rövidítések jegyzéke

AION = anterior ischaemias opticus neuropathia

AMD = age-related macular degeneration – korhoz kötött macula degeneráció

APC = Aktivált protein C

APTI = aktivált parciális thromboplastin-idő

FLAG = fluoreszcein angiographia

IL-6 = interleukin-6

IL-8 = interleukin-8

PKP = perforáló keratoplastica

PC = protein-C

PI = prothrombin-idő

PS = protein-S

PCR = polimeráz-lánreakció

SD = standard deviatio

TI = thrombin-idő

TP = összfehérje

7. Irodalom

1. Congdon N., O'Colmain B., Klaver CC., Klein R., Munoz B., Friedman DS., Kempen J., Taylor HR., Mitchell P.: Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004; 122(4):477-85.
2. Fine SL, Berger JW, Maguire MG, Ho AC.: Age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2000 ;342(7):483-92.
3. Javitt JC, Zhou Z, Maguire MG, Fine SL, Willke RJ.:Incidence of exudative age-related macular degeneration among elderly Americans. *Ophthalmology.* 2003;110(8):1534-9.
4. van Leeuwen R, Ikram MK, Vingerling JR, Witteman JC, Hofman A, de Jong PT.: Blood pressure, atherosclerosis, and the incidence of age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(9):3771-7.
5. Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, Klein BE, Smith W, De Jong PT.: Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology.* 2004;111(7):1280-7.
6. Tomany SC, Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BE, Knudtson MD.: Sunlight and the 10-year incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 2004;122(5):750-7.
7. Hogg R, Chakravarthy U.:AMD and micronutrient antioxidants. *Curr Eye Res.* 2004;29(6):387-401.
8. Vecsei PV, Kircher K, Reitner A, Khanakha G, Stanek G.:Chlamydia in anterior ischemic optic neuropathy. *Ophthalmologica.* 2002;216(3):215-20.
9. Vecsei PV, Kircher K, Reitner A, Khanakah G, Stanek G.:Chlamydia pneumoniae in central retinal artery occlusion. *Acta Ophthalmol Scand.* 2002;80(6):656-9.
10. Weger M, Haas A, Stanger O, El-Shabrawi Y, Temmel W, Maier R, Berghold A, Haller-Schober EM.:Chlamydia pneumoniae seropositivity and the risk of nonarteritic ischemic optic neuropathy. *Ophthalmology.* 2002;109(4):749-52.
11. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V.:Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet.* 1988;2(8618):983-6.
12. Huittinen T, Leinonen M, Tenkanen L, Virkkunen H, Manttari M, Palosuo T, Manninen V, Saikku P.:Synergistic effect of persistent Chlamydia pneumoniae infection, autoimmunity, and inflammation on coronary risk. *Circulation.* 2003;107(20):2566-70.
13. Liu R, Yamamoto M, Moroi M, Kubota T, Ono T, Funatsu A, Komatsu H, Tsuji T, Hara H, Hara H, Nakamura M, Hirai H, Yamaguchi T.:Chlamydia pneumoniae immunoreactivity in coronary artery plaques of patients with acute coronary syndromesand its relation with serology. *Am Heart J.* 2005;150(4):681-8.
14. Kalayoglu MV, Libby P, Byrne GI.:Chlamydia pneumoniae as an emerging risk factor in cardiovascular disease. *JAMA.* 2002;288(21):2724-31.
15. Christiansen G, Boesen T, Hjerno K, Daugaard L, Mygind P, Madsen AS, Knudsen K, Falk E, Birkelund S.:Molecular biology of Chlamydia pneumoniae surface proteins and their role in immunopathogenicity. *Am Heart J.* 1999;138(5 Pt 2):S491-5.
16. Nagy A., Facskó A., Deák J., Berta A.: A szenilis macula-degeneráció újabb etiológiai megközelítése. *Szemészet* 2002; 139.45-49.
17. Ishida O, Oku H, Ikeda T, Nishimura M, Kawagoe K, Nakamura K.:Is Chlamydia pneumoniae infection a risk factor for age related macular degeneration? *Br J Ophthalmol.* 2003;87(5):523-4.
18. Kalayoglu MV, Bula D, Arroyo J, Gragoudas ES, D'Amico D, Miller JW.:Identification of Chlamydia pneumoniae within human choroidal neovascular membranes secondary

- to age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(11):1080-90.
19. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D: Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19:201-211.
 20. Thakur A, Willcox MDP: Contact lens wear alters the production of certain inflammatory mediators in tears. *Exp Eye Res* 2000;70:255-259.
 21. Becker J, Salla S, Dohmen U, Redbrake C, Reim M: Explorative study of interleukin levels in the human cornea. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:766-771.
 22. Sotozono C, He J, Matsumoto Y, Kita M, Imanishi J, Kinoshita S: Cytokine expression in the alkali-burned cornea. *Curr Eye Res* 1997;16:670-676.
 23. Malecaze F, Simorre V, Chollet P, Tack JL, Muraine M, Le Guellec D, Vita N, Arne JL, Darbon JM: Interleukin-6 in tear fluid after photorefractive keratectomy and its effects on keratocytes in culture. *Cornea* 1997;16(5):580-587.
 24. Tishler M, Yaron I, Geyer O, Shirazi I, Naftaliev E: Elevated tear interleukin-6 levels in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105:2327-2329.
 25. Fleisher LN, McGahan MC, Ferrell JB: Rabbit pigmented ciliary epithelium produces interleukin-6 in response to inflammatory cytokines. *Exp Eye Res* 2000;70:271-279.
 26. Schultz C, Kunert KS: Interleukin-6 levels in tears of contact lens wearers. *J Interferon Cytokine Res* 2000;20:309-310.
 27. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Marci A, Pflugfelder SC: Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2283-2292.
 28. Funding M, Vorum H, Nexø E, Moestrup SK, Ehlers N, Møller HJ: Soluble CD163 and interleukin-6 are increased in aqueous humour from patients with endothelial rejection of corneal grafts. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83: 234-239.
 29. Malecaze F, Chollet P, Cavrois E, Vita N, Arné JL, Ferrara P: Role of interleukin 6 in the inflammatory response after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1681-1683.
 30. Leonardi A, Borghesan F, DePaoli M, Plebani M, Secchi AG: Procollagens and inflammatory cytokine concentrations in tarsal and limbal vernal keratoconjunctivitis. *Exp Eye Res* 1998;67:105-112.
 31. Murray PI, Hoekzema R, van Haren MAC, de Hon FD, Kijlstra A: Aqueous humor interleukin-6 levels in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:917-920.
 32. Hoekzema R, Murray PI, van Haren MAC, Helle M, Kijlstra A: Analysis of interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:88-95.
 33. Ohta K, Yamagami S, Taylor AW, Streilein JW: IL-6 antagonizes TGF- β and abolishes immune privilege in eyes with endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2591-2599.
 34. Kerényi Á, Nagy Gy, Veres A, Varga Á, Füst Á, Nagymihály A, Czumbel N, Süveges I, Füst G: C1r-C1s-C1inhibitor (C1rs-C1inh) complex measurements in tears of patients before and after penetrating keratoplasty. *Curr Eye Res* 2002;24:99-104.
 35. Aparicio C., Dahlbäck B.: Molecular mechanisms of activated protein C resistance. Properties of factor V isolated from an individual with homozygosity for the Arg506 to Gln mutation in the factor V gene. *Biochem J* 1996;15:467-472.
 36. Balogh L, Poka R., P,tliegler GY.: High prevalence of factor V Leiden mutation and 20210A prothrombin variant in Hungary. *Thromb Haemost* 1999;81:660-661.
 37. Dahlbäck B.: Resistance to activated protein C caused by the factor V R506 Q mutation is a common risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997;78:483-488.

38. Shen L., Xuhua He., Dahlbck B.: Synergistic cofactor function of factor V and protein S to activated protein C in the inactivation of the factor VIIIa-factor IXa complex. *Thromb Haemost* 1997;78:1030-1036.
39. Zoller B., Hillap A., Berntorp E., Dahlbck B.: Activated protein C resistance due to a common factor V gene mutation is a major risk factor for venous thrombosis. *Annu Rev Med* 1997;48:45-58.
40. Vingerling JR, Hofman A, Grobbee DE, de Jong PT.:Age-related macular degeneration and smoking. The Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114(10):1193-6.
41. Leinonen M.:Chlamydia pneumoniae and other risk factors for atherosclerosis. *J Infect Dis*. 2000;181 Suppl 3:S414-6.
42. Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S: Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res* 1998;17:673-676.
43. Thakur A, Willcox MDP, Stapleton F: The proinflammatory cytokines and arachidonic acid metabolites in human overnight tears: homeostatic mechanisms. *J Clin Immunol* 1998;18:61-70.
44. Tervo T, Virtanen T, Honkanen N, Härkönen M, Tarkkanen A: Tear fluid plasmin activity after excimer laser photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3045-3050.
45. Berta A: Collection of tear samples with or without stimulation. *Am J Ophthalmol* 1983;96:115-116.
46. Barton K, Monroy DC, Nava A, Pflugfelder SC: Inflammatory cytokines in the tears of patients with ocular rosacea. *Ophthalmology* 1997;104:1868-1874.
47. Berta A, Lampé Zs, Orosi P, Takács L, Módis L, Balázs E, Radics E: Local immune response following corneal transplantation. *Orbit* 1997;16:41-48.
48. Berta A, Lampé Zs: Immunoglobulin levels in the tears of patients with corneal grafts and transplant rejection. In: Sullivan D (ed.). *Lacrimal Gland, Tear Film and Dry Eye Syndromes: Basic Science and Clinical Relevance*. Advances in Experimental Medicine and Biology. Plenum Press, New York, USA. 1998;438:603-609.
49. Hayreh S.S.: Anterior ischemic optic neuropathy. Terminology and pathogenesis. *Br J Ophthalmol* 1974;58:955.
50. Hayreh S.S., Zimmermann M.B., Podhajsky P.: Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy: time of onset of visual loss. *A M J Ophthalmol* 1997;124:641-647.
51. Kanski J.J.: Neuro-ophthalmology. In: Kanski J.J. (ed.): *Clinical ophthalmology*. third edition, chapter 14. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, pp. 1994;460-462.
52. Hayreh S.S.: Anterior ischemic optic neuropathy. II. Fundus on ophthalmoscopy and fluorescein angiography. *Br J Ophthalmol* 1974;58:964.
53. Shimon K, Winder A., Eldor A.: Activated protein C resistance in a case of anterior ischemic optic neuropathy. *Ann Ophthalmol* 1999;31:151-152.
54. Shin S.Y., Kim D.S., Ko M.K: Fluorescein angiographic features of choroidal insufficiency in anterior ischemic optic neuropathy. *Korean J Ophthalmol* 1999;13:100-104.

8. Az OTKA pályázat kapcsán megjelent közlemények jegyzéke

- Nagy V., **Facsko A.**, Takács L., Balász E., Berta A., Balogh I., Edes I., Czuriga I., Pfliegler G.: Activated protein C resistance in anterior ischaemic optic neuropathy *Acta Ophthalmol Scand.* 82:140-3 2004.
- Kemeny-Beke A., Aradi J., Damjanovich J., Beck Z., **Facsko A.**, Berta A., Bodnar A.: Apoptotic response of uveal melanoma cells upon treatment with chelidonine, sanguinarine and chelerythrine. *Cancer Lett.* 237:67-75, 2006.
- Fodor M., **Facsko A.**, Rajnavölgyi E., Harsfalvi J., Bessenyei E., Kardos L., Berta A.: Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Res* 38:182-8 2006.
- Kemeny-Beke A., Berenyi E., **Facsko A.**, Damjanovich J., Horvath A., Bodnar A., Berta A., Aradi J.: Antiproliferative effect of 4-thiouridylate on OCM-1 uveal melanoma cells. *Eur J Ophthalmol.* 16:680-5, 2006.
- Szuk T., Gyongyosi M., Homorodi N., Kristof E., Kiraly Cs., Edes IF., **Facsko A.**, Pavo N., Sodeck G., Strehlow C., Farhan S., Mauer G., Glogar D., Domanovits H., Huber K., Edes I.: Effect of Timing of Clopidogrel Administration on 30-day Clinical Outcomes: 300 mg Loading Dose Immediately after Coronary Stenting vs Pretreatment 6-24 before Stenting in a Large Unselected Patient Cohort. *Am Heart J*, accepted for publication
- Nagy A., **Facsko A.**, Deák J., Berta A.: A szenilis macula-degeneráció újabb etiológiai megközelítése *Szemészet*, 139:45-50, 2002.
- Nagy V., **Facsko A.**, Balász E., Pfliegler Gy., Kerényi Adrienne, Berta A.: Az aktivált protein-C-rezisztencia és az anterior opticus neuropathia közötti kapcsolat *Szemészet*, 139:51-54, 2002.