

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

A perforáló keratoplasztika alkalmazása lovakban

PhD értekezés tézisei

Dr. Makra Zita

2016.

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Prof. Dr. Bodó Gábor, Dipl. ECVS
SZIE ÁOTK Lógyógyászati Tanszék és Klinika
témavezető

Prof. Dr. Tóth József
Tierärztliche Klinik Domäne Karthaus, Németország, Dülmen
témabizottság tagja

Dr. Kerényi Ágnes, PhD
Osztályvezető főorvos, Szemészeti Osztály,
Bajcsy-Zsilinszky Kórház, Budapest
témabizottság tagja

Bevezetés

A szaruhártya fekélyes gyulladásai és a nem-fekélyes keratitisek gyakori szembetegségek lovakban, amelyek veszélyeztetik a ló látását. A gyulladással járó keratopátiák során a cornea stromájába jutott fertőző ágensek a neutrofil granulocyták infiltrációját, lassú epithelisatiót, intenzív neovascularisatiót, a kollagén rostok átrendeződését és hegesedést váltanak ki. Gombák okozta fertőzések esetében a gyulladás a Descemet-membrán (DM) irányába halad, és a mikrobák aktivitásának következtében a stroma szerkezete felbomlik. Mátrix metalloproteinázok (MMP-2, MMP-9), elasztáz, proteáz enzimek károsítják a szaruhártyát, lágyuló fekélyt, tályogot okoznak, valamint következményes súlyos mértékű iridocyclitist idéznek elő.

Lovaknál a keratoplasztikát elsősorban gyógyítási célból végezzük a gyulladással járó folyamatok eliminálására vagy tektonikus célból és nem direkt látás javítás céljából. Ezért a keratoplasztikát a keratitisek gyógyszeres, konzervatív kezelésének sikertelensége esetén és az egyidejűleg fennálló iridocyclitis megszüntetésére vagy a cornea integritásának helyreállítására alkalmazzuk. A konzervatív kezelés akkor minősíthető sikertelennek, ha a megkezdése után 48 órával nincs jelentős javulás a cornealézió méretét, vascularisatióját és az anterior uveitist illetően. A perforáló keratoplasztika (PK) főbb indikációi lovakban: a stroma mélyében helyeződő léziók (stroma-tályog – SA; endothel gyulladás; neoplázia) kimetszése, illetve a szem szerkezeti felépítésének megtartása, a károsodott szaruhártya pótlása céljából, például mély lágyuló fekélyek, descemetokele vagy perforáló cornea sérülés esetén.

A PK a szaruhártya teljes vastagságának mikrosebészeti átültetése, amely magában foglalja a szaruhártya összes rétegének kimetszését és pótlását. A perforáló keratoplasztika általános anesztéziában jól kivitelezhető, amely a beültetett graft elhomályosodása mellett a legtöbb esetben a látóképesség közel 80%-a megőrizhető.

Célkitűzések

1. A munka során célunk volt megvizsgálni, hogy az egészséges ló szaruhártyán végzett perforáló keratoplasztika után, a beültetett cornea korong (allogén transzplantáció) milyen eredménnyel tud gyógyulni.
2. Célul tűztük ki a PK műtét után a friss, fagyasztott és szövettároló folyadékban konzervált graftok beépülése közötti különbség felfedését.

3. További célunk volt, hogy megvizsgáljuk, lehet-e sikeresen használni tartósított cornea allograftot PK műtéthez lóban?

4. Célunk volt, hogy megmérjük a könnyfilm immunglobulin szintjeit PK előtt és a korai posztoperatív napokban és megvizsgálni azok időbeli alakulását, valamint a mért értékeket összehasonlítani a nem-operált társszemekben mért értékekkel.

5. Célul tűztük ki a posztoperatív uveitis, a mért ellenanyag-szintek, a kilökődés mértéke és a végső klinikai eredmény közötti összefüggések vizsgálatát.

6. Célunk volt továbbá a klinikai tapasztalatok összefoglalása, a PK műtéstechnikai nehézségeinek és lóra való adaptálásának bemutatása és az utókezelés javítása.

Kísérletes perforáló keratoplasztika és graft immunrejekció

Anyag és módszer

A kísérletben a Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar Nagyállat-klinikájának tulajdonában levő – más kísérletben is résztvevő és amiatt eutanázia előtt álló – nyolc lovát használtuk (1-8. eset). Minden ló teljes féregtelenítési és vakcinázási protokollal rendelkezett. A lovak magyar félvérek voltak, életkoruk 3 és 7 év között változott. Két esetben a jobb szemén (4, 7. eset) és hat esetben a bal szemén végeztünk PK műtétet. Öt donor corneát tároltunk szövettároló folyadékban (1-5. eset), kettő friss corneát (6. és 7. eset) és egy mélyfagyasztott corneát használtunk (8. eset). A lovak réslámpa-biomikroszkóp, direkt oftalmoszkóp és tonométer használatával szemészeti vizsgálaton estek át, mely alapján mindkét szemük egészségesnek bizonyult.

A donor szaruhártya előkészítése

Donorként a klinikán egyéb okból véglegesen elaltatott, 10-13 éves magyar félvér herélt lovakat használtunk. A donor állatnak mentesnek kell lennie fertőző betegségtől, daganatos megbetegedéstől és egészséges szemmel kell rendelkeznie. Az alábbi három módszert alkalmaztuk a szaruhártya graftok tárolására:

1. Friss egész szemgolyó az eutanázia után eltávolítva (elhullás után 6-24 órán belül). Az enucleált szemgolyót hűtőszekrényben +4°C hőmérsékleten maximum 2 napig tároltuk steril nedveskamrában (6-7. eset).

2. Tizenhárom corneát tartósítottunk a Budapest Cornea Bank protokollja alapján. A donor mintákat 6 hónapos és 13 éves kor közötti, egészséges szemű lovakból sterilen metszettük ki. Az elhullás és a szövetkimetszés közötti átlagos idő 7 óra (0,5 – 14,5 óra) volt. Az eutanázia után a szemfelszínt 0,5%-os Betadine oldattal és 0,3%-os gentamicin oldattal leöblítettük és a szaruhártyát egy vékony sclera szegéllyel szikével kimetszettük (1-5. eset). A mintavétel után az endothel sejtsűrűség 2400-3000/mm² volt non-kontakt spekulár mikroszkóppal vizsgálva. A corneákat szövettároló folyadékban tároltuk (Medium I és II.) átvéve a Humán Cornea Bank (Budapest, 1993. óta) tárolási protokollját. A szaruhártyákat a Medium I. tárolófolyadékban akár hetekig is lehet tartani, de a felhasználás előtt legalább 3-7 nappal át kell őket helyezni a Medium II. tárolófolyadékba. Ez utóbbi 5% dextránt tartalmaz és magasabb a pH-ja és az ozmolaritása, hogy a cornea szövetét dehidráltan tartsa. A teljes tárolási időtartam maximum 30 nap lehet. Az endothel sejtek pusztulása a tárolás alatt 10 %-nál kevesebb lehet. A tárolás során összesen 2 ízben, a Medium I. tároló folyadékból az 5. napon, illetve a Medium II. tárolófolyadékba történő áthelyezéskor vettünk mintát bakteriológiai és mikológiai tenyésztésre. Összesen 13 corneát tároltunk, amelyek közül csak azokat használtuk fel, amelyek mikrobiológiai vizsgálata negatív eredménnyel zárult és a folyadékok is mindvégig tisztán átlátszóak maradtak. Az 1-5. esetekben az eutanázia okát, a cornea kimetszésének idejét, a donor ló ivarát, fajtáját, életkorát, a folyadékminták tenyésztési eredményét és a tárolás fázisait, idejét feljegyeztük.

3. A mélyfagyasztott tároláshoz cadaver lovakból 6 órán belül eltávolított szemgolyókat 0,3%-os gentamicin oldatos lemosás után mélyhűtőben –20°C hőmérsékleten tároltuk és felhasználás előtt néhány órával szobahőmérsékleten engedték kiolvadni (8. eset).

Ellenanyagok meghatározása a könnymintákból

Minden egyes mintavételkor 100 µl könnyet gyűjtöttünk mindkét szemből a mediális könny meniscusból a reflex könnyezést elkerülve üveg kapilláriscsővel felületi érzéstelenítés nélkül, a napi szemkezelések közötti időpontban. A mintákat a műtét előtt (0. napon), majd műtét után a 3., 6., 9., 12. és 21. napon nyertük. A könnyet az üveggapilláris csőből egy Eppendorf csőbe juttattuk, majd azonnal lefagyasztottuk és –80 °C-on tároltuk az összes minta egyidejű analíziséig. A könnymintákból direkt ELISA módszerrel a szokásos standard protokoll alapján IgA-, IgG- és IgM- szinteket határoztunk meg. Vizsgáltuk, hogy eltérnek-e az operált szemekből és az ellenoldali kontroll szemekből vett könnyminták ellenanyag-szintjei és változnak-e az idő függvényében az egyes immunglobulin-szintek. Összehasonlítottuk a klinikailag gyulladt és kevésbé gyulladt szemek könnymintáit is.

Eredmények

Klinikai eredmények

A donor corneák közül 5 szövettároló folyadékban volt tárolva (1-5. eset), 2 friss (6. és 7. eset), 1 pedig fagyasztott (8. eset) volt. Az 1. és 2. esetben 11 napig tárolt corneákat; a 3. és 4. esetben 10 napig; az 5. esetben 16 napig tárolt corneát használtunk beültetéskor. Az első posztoperatív napon blepharospasmus, és a graft környékére lokalizálódó ödéma volt megfigyelhető minden műtött szemnél. Később a graft átlátszóságát a vizsgálatkor készített fényképek és írásos vizsgálati leletek alapján ítéltük meg és átlátszatlan vagy ödémás vagy fibrotikus jelzőkkel írtuk le.

A harmadik posztoperatív napon enyhe, közepes vagy súlyos blepharospasmust láttunk és az 1., 2., 5., 6., 8. esetekben mucoid váladékozás volt tapasztalható. A graftok még ödémásabbak voltak és kidomborodtak a szaruhártya síkjából, illetve a graft környéki szaruhártya is ödémás volt. A 3.-4. napon a felületi kezelésben adott tobramycint klóramfenikolra cseréltük az 1., 2., 5. esetekben illetve ciprofloxacinnra a 8. esetben, amelyet a szemek mucopurulens váladékozása és a mikrobiológiai mintából végzett aerob baktériumtenyésztés és antibiogram eredménye indokolt (8. eset).

Kezdetben a graft területe rózsaszínű volt a neovascularisatio és a sejtes infiltráció miatt, amelyek a gyógyulási folyamat velejárói. A műtét utáni kb. 4-5. naptól minden esetben láttunk felületesen haladó vérereket a limbus felől a graft felé növekedni. A PK műtét után két héttel a graftok jelentősen megduzzadtak, és mint egy subepitheliális hólyag kidomborodtak a szaruhártyából, gyakran majdnem 1 mm vastagságban. Az iridocyclitis klinikai jelei, úgy mint miosis, zavaros csarnokvíz, mély stromális cornea vascularisatio és ödéma minden lóban megfigyelhető volt, de különböző mértékben (jelentős anteior uveitis: 1., 5., 8. eset) az első 21 napban. A második-harmadik hét után nem volt fluorescein-pozitív festődés és az epithelisatio befejeződött. Minden esetben jellemzően a 42. nap környékén jelentős cornea fibrosis és pigmentáció volt megfigyelhető a recipiens corneában. A graftok átlátszatlanok és erezettek maradtak, de az ödéma és bullaképződés ekkorra megszűnt. A pigmentáció foka általában korrelált a szem gyulladásával (pl. 2. eset: alig gyulladt és nincs pigmentáció; 8. eset: intenzív gyulladás és fokozott pigmentáció). Mindig tapasztaltunk bizonyos fokú graft immunrejekciót, egy lóban sem volt teljesen átlátszó grafftal rendelkező szem. Az átlagos műteti idő 94 perc volt. A műtét utáni szövődmények és komplikációk a következők voltak: enyhe blepharitis a dorsalis conjunctiva fornixba ültetett SPL miatt az 1., 3., 8. esetben. A 8. esetben *Pseudomonas aeruginosa* miatt kialakult keratitis jelentkezett a 7. napon, amelyet mikrobiológiai mintavétel és tenyésztés alapján diagnosztizáltunk. Ekkor a felületi kezelésben adott klóramfenikolt ciprofloxacinnra cseréltük az antibiogram alapján, és a keratitis okozta súlyos klinikai tünetek a 21. nap körül megszűntek. A többi cornea

gyógyulása fertőzés nélkül zajlott. A 7. esetben anterior synechia-t diagnosztizáltunk a 42. nap környékén. Két esetben: 3. és 5. eset, a cornea enyhe felületi egyenetlenségét és a görbület megváltozását tapasztaltuk, ebben a két esetben nagyfokú astigmia alakult ki. Minden szemet legalább 180 napig utánköveltünk és vizsgáltunk, az átlagos utánkövetési idő 286 nap volt (180-425 nap). A látóképesség megtartása 100 %-os volt a direkt PLR és a fenyegetési reflex megtartottsága alapján az utolsó szemvizsgálat alkalmával.

Statisztikai analízis

A vizsgált immunglobulinok tekintetében az operált és nem operált szemek könnymintáinak értékeit t-próbával hasonlítottuk össze. Az IgA vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású és a nem-operált szemek esetében szignifikánsan kisebb az érték ($p=0,001$). Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($p=0,812$).

Az IgG vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású, a különbség nem szignifikáns ($p=0,101$). Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($p=0,221$).

Az IgM vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású, a nem-operált szemek esetében szignifikánsan kisebb az érték ($P=0,006$). Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($P=0,217$).

Lineáris regresszió-analízist használtunk, amikor külön az operált, ill. nem-operált szemekben vizsgáltuk az ellenanyag szintek változását az idő függvényében. Egyik ellenanyagnál sem mutatkozott szignifikáns változás az idő függvényében az operált szemekben: IgA esetében $p=0,109$, IgG esetében $p=0,1929$, IgM esetében $p=0,7823$.

Lineáris regresszióval a nem-operált szemekben sem volt szignifikáns változás az értékekben az idő függvényében. IgA esetében $p=0,513$, IgG esetében $p=0,9566$, IgM esetében $p=0,1873$.

Az operált és nem-operált szemek esetében is alacsonyabb az IgG szintje a könnyben, mint az IgA és IgM szintek.

Megvitatás

Az elhullás után 24 órán belül kinyert, majd 48 órán belül felhasznált friss corneák mellett fagyasztott és szövettároló folyadékban konzervált szaruhártyákat is használtunk PK műtétekhez. Megfelelően beépült graftokat kaptunk, azonban mindegyik átlátszatlan lett. Az 1-5. esetben tartósított corneát, a 6, 7. esetben friss corneát, a 8. esetben fagyasztott corneát ültettünk be. A gyakorlatban legkönnyebben hozzáférhető és legolcsóbb tárolási technika a corneák fagyasztva tárolása, ami lehetővé teszi, hogy egy klinikán a fagyasztott szaruhártyák mindig rendelkezésre álljanak. Eseteink közül a 7. eset tekinthető a klinikailag legjobb kimenetelűnek, melynél az elhullott donor ló szaruhártyáját 1 órán belül friss

graftként használtuk fel és a varrást USP 8-0 nylon fonallal végeztük. A posztoperatív klinikai vizsgálatok alapján a különbözőképpen tárolt cornea graftok hasonlóan viselkedtek a beépülés során és megtekintéssel egyformának tűntek már az első 1-2 hét után.

Mindegyik PK műtét sikeresnek tekinthető, mert a graftok jól beépültek a recipiens szaruhártyába. A 6. esetben használt egyszerű csomós és tovaftató varrat kombinációja biztonságosnak bizonyult a graft rögzítésére és kevésbé irritáló a csomók kevés száma miatt, azonban az egyszerű csomós varratok alkalmazása a legbiztonságosabb rögzítési technika PK műtéteknél lóban. Különösen, ha a graft bevarrása fertőzött szaruhártyába történik. A fertőzött corneák PK műtéteinek ugyanis egyik leggyakoribb posztoperatív komplikációja a varratelégtelenség. A fel nem szívódó fonalat (USP 8-0 nylon, 6-8. eset) nem távolítottuk el, mert nem okozott diszkomfortot a szemben és nem befolyásolta a látást. A monofil nylon varratok kisebb irritációt okoznak a polyfil felszívódó varróanyagokhoz képest, amelyet még nagyfokban csökkenthet, ha a csomók a varratvégekkel a cornea szövetébe vannak beforgatva.

Saját tapasztalataink alapján a sebészi technika hiányosságai (mint például a nem megfelelő graft manipuláció, túl felületes vagy perforáló öltések) és a posztoperatív menedzsment meghatározó elemek a műtét sikeres kimenetelében, amelyek miatt nagyobb hegesedéssel gyógyulhat a műtéti terület. A felületi és szisztémás antibiotikum és antimikotikum, felületi mydriatikum, cycloplegikum és NSAID szisztémás adása akár heteken keresztül elengedhetetlen a sikeres gyógyulási folyamathoz. A PK műtéten átesett páciensek szemét szoros kontroll alatt tartva rendszeresen ellenőrizni kell, hogy a korai komplikációkat és a másodlagos uveitis kezdeti tüneteit felismerjük. Lovakban a szaruhártya betegségekhez társuló másodlagos anterior uveitis a n. trigeminushoz köthető érző-ideg-irritáció eredménye, amit axon-reflex-aktivációnak neveznek és a szivárványhártya-sugártest következményes gyulladását váltja ki. Fontos, hogy a szemkörnyék dörzsöléséből származó és az SPL károsodásával járó sérüléseket kivédjük szemvédő sapka vagy háló használatával a műtét utáni napokban.

Az immunrejekció klinikai megnyilvánulása a graft elhomályosodása, infiltrációja. Ezen tanulmány alátámasztja korábbi tanulmányok eredményeit, miszerint lovakban a cornea graft erezettsége, sejtes beszűrődése és ödémája, később fibrosisa bizonyos mértékű pigmentációval a graft beépülés velejárói. A kísérletben résztvevő lovak szaruhártyája a PK előtt teljesen egészséges, átlátszó és érmentes volt, így a graftkilökődésre minimális volt az esélyük. A felhasznált friss vagy szövettároló folyadékban tárolt donor graftok pedig életképes, ép endotheliummal rendelkeztek. Mindazonáltal egyik esetben sem maradt átlátszó graft műtét után. A műtéteink után bizonyosságot nyert, hogy a PK-n átesett corneák ereződése fontos és szükségszerű a beépüléshez és minden műtött szemén megfigyelhető volt, amely folyamat hozzájárult mind a gyógyuláshoz illetve az

immunológiai kitétséghez és következményes immunreakcióhoz. Eredményeink a szaruhártya szöveti egységének megőrzésére és a látás megtartására sikeresnek bizonyultak.

Immunválasz

Az egészséges emberi szem könnyében kimutathatók a komplement rendszer elemei, szabályozó fehérjék, ill. az IgG és IgM molekulák. Az IgA- és IgM-szintek megemelkedése specifikusabb a graft kilődésre nézve, de egyéb immunológiai reakciók (fertőződés miatt kialakult gyulladás) szintén hozzájárulhatnak a helyi immunglobulinok fokozott termelődéséhez. Eseteinkben a jelentős gyulladás miatt fokozódott a kötőhártya vérereinek permeabilitása és következményesen megemelkedett az IgM szint annak ellenére, hogy nagy molekulatömegű fehérjéről van szó.

Emberekben a keratoplasztika kimenetelében döntő jelentőséggel bír, ha a recipiens szaruhártya műtét előtt már vascularisalt. Ilyen esetekben nagyobb az esélye annak, hogy a graft később nem marad átlátszó. Feltételezhetően a lokális sejtes és humorális immunitás felelős a heveny illetve idült transzplantátum kilődéséért PK műtét után. A könnyfilm IgA- és IgM-szintjeinek emelkedése emberben előrejelzi az immunreakció klinikai tüneteit és jelzi az immunszuppresszív kezelés (helyi és szisztémás kortikoszteroid gyógyszerek) megkezdésének optimális idejét, ami a 12. posztoperatív nap körül van. Ha a könnyből mért emelkedett ellenanyagszint alapján az így előrejelzett időpontban megkezdik az immunszuppresszív kezelést, a reakció nem tud végbemenni. Lovakban, amikor a PK műtét indokolt, akkor a szaruhártya már ereződött és műtét után is elkerülhetetlen a vascularisatio, ami meghatározza a helyi sejtes és humorális immunválaszt. A kísérletünk során mért IgG-szintek alacsonyabbak voltak az IgA- és IgM-szinteknél, ellentétben az embereknél mért értékekkel, ahol az IgM-nek volt alacsony alapszintje. Lovakban az IgG-nek volt alacsony alapszintje minden mintában, az IgA- és IgM-szintek időbeli változása nagy variabilitást mutatott. Az IgA és IgM esetében a nem operált szemekben kisebb értékek voltak mérhetőek. Az IgG esetében nem volt szignifikáns különbség az operált és nem operált szemek között. Az időbeli lefutásban nem volt különbség az egyes immunglobulin-szintekben sem az operált, sem a nem-operált szemeknél. Az Ig-szinteknek inkább egy egyedi mintázata volt jellemző mindkét szemnél az egyes lovakban. Az IgA- és IgM-szintek hasonlóan alakultak egy szemben belül. Néhány IgA csúcsot lehetett látni körülbelül a 6. nap táján, ami a lokális antigén stimulus eredménye és ezen IgA-szint jellemezheti leginkább a helyi immunaktivitást lóban, amely korábban tűnik, mint az embereknél mért növekedés a 12. nap körül. A helyi immunstimuláció és gyulladás miatt növekedhettek meg az IgM- és IgA-szintek a könnyben. Ugyanakkor az egyik szemben végzett sebészi stimuláció szerepet játszhat mindkét szem immunválaszában befolyásolásában. Egy tanulmányban az MMP-2 magasabb

koncentrációját mérték olyan lovak egészséges ellenoldali szeméből, amelyeknek másik szemük fekélyes volt, mint a normál kontroll lovakban. Ez egy központi vagy szisztémás szemre ható szimpatikus válaszreakció következménye lehet, amikor egy nyálkahártya-felzínen kialakult gyulladás kiválthat egy leukocita migrációt egy addig érintetlen nyálkahártya területre és elindíthat egy válaszreakciót az ellenoldali kötőhártyához kapcsolódó limfoid szövetben, ami végül az ott található limfocitákat aktiválja. Nem volt jelentős különbség az egyes lovakat összehasonlítva a nagyon gyulladt és kevésbé gyulladt szemek immunglobulin-szintjei között. Ez azért lehetséges, mert a mérési technika nem volt elég érzékeny, így egyéb gyulladáson fehérvérjék is jelen lehettek a könnymintákban, míg a valós immunglobulin-szintek megközelítőleg kerültek meghatározásra.

Perforáló keratoplasztika alkalmazása szaruhártya tályog gyógykezelésére és tapasztalatai egyéb klinikai esetekben

A munka második részében három klinikai esetet dolgoztunk fel és mutattunk be, melyeknél a szaruhártya teljes vastagságára kiterjedő tályog miatt PK-t alkalmaztunk. Az eseteírások során ismertetjük a kórelőzményt, a klinikai tüneteket, az allograft transzplantáció menetét és a műtét utáni eredményt. Mindhárom esetben kimetszésre került az egész strómára kiterjedő tályog. A cornea-trepánnal kör alakban kimetszett tályog helyére 1 mm-el nagyobb átmérőjű teljes vastagságú donor szaruhártya darabot rögzítettünk varratokkal. Minden PK műtét után heg maradt vissza a graft helyén, de a szemek fényt érzekeltek és két esetben látóképesek maradtak. A PK egy hatékony szemsebészeti eljárás a stroma tályogok kezelésében lovaknál, mivel ezen tályogok felületi kezelése hatástalan. A műtét utáni eredmény is kedvező, korai műtéttel a látás megőrizhető és kozmetikailag is jó eredmény nyerhető. Az európai szakirodalomban eddig nem jelent meg olyan leírás, amelyben szaruhártya-tályogok kezelésére PK műtétet végeztek lovakban.

A munka harmadik részében hat további klinikai esetet írtunk le, amelyekben a PK műtétek összes indikációja szerepelt. Az elvégzett PK műtéttel – akár kötőhártya lebennyel kombinálva – sikeres fényérzékelés, esetenként jó látóképesség maradt meg még a szaruhártya teljes perforációja esetén is. A varratokkal rögzített graft minden esetben beépült a szaruhártyába, azonban a területén a cornea szöveti fibrózisa és átlátszatlan hegképződés alakult ki. Mindegyik operált ló visszatérhetett az eredeti munkába, szemük nem volt fájdalmas, nem könnyezett, a szemrés nyitott volt az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával. A beültetett graft minden esetben fibrózissal épült be a szaruhártyába.

Következtetések

Az általunk 8 egészséges és 9 beteg lószemen elvégzett PK műtétek alapján a graft elhomályosodása és immunreakciója tipikusan az 5–7. napon kezdődött, és mindig bekövetkezett, nem tudtuk kivédeni. Egészséges szaruhártyán végzett PK esetében is az immunreakció eredményeképpen elhomályosodnak, pigmentálódnak a graftok. Lóban az erős graft immunreakció magyarázatát még nem ismerjük, az azonban bizonyos, hogy jelentős gyulladásos és immunológiai reakciók zajlanak a szaruhártya folytonosságának megszakadásakor, hiszen a műtét után az IgA- és IgM-szintek megemelkednek. Ezért nagyon valószínűtlen, hogy olyan átlátszó graftok maradjanak vissza lovak szemében, mint amilyenek az emberi szaruhártya-átültetések után várhatók. Egy kisméretű szaruhártyaheg azonban sikeres eredménynek számít lovakban. Emberekben viszont a gyulladt szaruhártyába ültetett graftok elhomályosodása és hegesedése esetén ismételt műtétre lehet szükség, amennyiben annak indikációja nem a lovakban ismertetett tektonikus indikáció, és az elhelyezkedésük centrális. Lovakkal kapcsolatosan inkább a cornea-graft vagy „corneal patch” és nem a szaruhártya-átültetés kifejezés lehet alkalmas a műtét megnevezésére, mert ezen esetekben egy relatíve kicsi, általában fagyasztott szövetdarabot, immunológiai egyeztetés nélkül használunk a hiányzó vagy megbetegedett cornea helyére tektonikus célból. Leggyakorlatiasabb a mélyfagyasztott, elhalt endothelsejteket tartalmazó graftok használata, amelyek $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on akár 6 hónapig is eltarthatók, ill. felhasználhatók. Saját tapasztalataink alapján a nem teljesen felengedett, fagyasztott donor graft könnyebben varrható. A legideálisabb a friss csikóhullából származó, még ép endothel sejtekkel rendelkező graft, de ez is teljes mértékben elhomályosodik a posztoperatív szakban. Azonban a friss graftok hozzáférése estleges, a szövettároló folyadékban való konzerválás igen drága és néhány hétre korlátozódik a felhasználhatóság ideje. Valós kozmetikai különbség nincs a különféleképpen tárolt graftok beültetése után. Automata microkeratom használata, új fertőzésellenes és kilökődést gátló gyógyszerek javíthatják az eredményeket lovakban. Mindezen technikák tökéletesítése talán egyszer jobban átlátszó corneát fog eredményezni lovakban is keratoplasztika után. Kutyaiban végzett kísérleti PK-műtétek alátámasztják a tapasztalatainkat, miszerint a műtét sikerességét leginkább a cornea varrási technikája, a sebészi jártasság és a beültetett graft endothelsejtjeinek minősége határozza meg. A lovaknál alkalmazott különféle keratoplasztikák elterjedése és további fejlesztése segít csökkenteni a súlyos szaruhártya megbetegedések következményeit, és kedvezőbb kórjóslatot ígér.

Új tudományos eredmények

1. Először írtuk le szövettároló folyadékban tartósított cornea graftok felhasználását lovak PK műtéteinél.
2. Az egészséges, átlátszó, érmentes, ép endothellel rendelkező corneába ültetett akár friss vagy konzervált graft is átlátszatlan maradt lóban.
3. A friss, tartósított vagy fagyasztott donor graftok hasonló lépésekben, azonos eredménnyel alkalmazhatók ló PK műtéteihez.
4. A másodlagos anterior uveitis az ép szaruhártya PK műtétek után is kialakul.
5. Először határoztuk meg a könny immunglobulin szintjeit lóban. A könny IgG-szintje alacsony alapszintet mutat, míg a PK után a 3-10. napok közötti időszakban az IgA- és IgM-szint emelkedik az operált szemekben.

Publikációk

Az értekezéshez kapcsolódó publikációk és konferenciaközlemények

Z. Makra, T. Tuboly, G. Bodó: Penetrating keratoplasty and graft rejection in eight horses. Acta Veterinaria Hungarica, 2013. 61; 160-174.

Z. Makra, I. Biksi, G. Bodó: Penetrating keratoplasty for treatment of corneal abscesses in horses-case report. Acta Veterinaria Brno, 2013. 82; 337-343.

Makra Z., Bodó G.: Különböző keratoplasztikák alkalmazási lehetőségei lovak szaruhártyájának műtéti gyógykezelésére. Irodalmi áttekintés. Magyar Állatorvosok Lapja, 2013. 135; 579-586.

Makra Z.: A ló szaruhártya konzerválása keratoplasztika céljából. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2005.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. XIII. Magyar Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2005.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2006.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. Lótenyésztési Tudományos Napok, Debrecen, 2006.

Makra Z.: Immunglobulinok vizsgálata ló könnyben szaruhártya átültetés és graft immunrejekció után. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2007.

Makra Z.: Lovak gyakoribb szaruhártya betegségeinek diagnosztizálása és gyógykezelése. IV. Szentesi Nemzetközi Állatorvosi Konferencia, Szentese, 2014.

Makra Z, Biksi I: A szaruhártya citológiai vizsgálatának diagnosztikai jelentősége. XXII. Lógyógyászati Kongresszus, Visegrád, 2014. november 28-29.

Az értekezéshez nem kapcsolódó egyéb publikációk

T. D. Ambriskó, J. P. Schramel, A. Adler, O. Kutasi, **Z. Makra**, P. Moens: Assessment of distribution of ventilation by electrical impedance tomography in standing horses. *Physiological Measurement*, 2015. 37; 175-186.

Z. Makra, Sz. Molnár: Ocular cases evaluated by the Equine Clinic of the Veterinary Faculty, Szent István University over five years. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Helsinki, Finland May 28-31 2015. *Veterinary Ophthalmology*, 2015. 18; 5; 4-17.

Z. Makra, Sz. Molnár, Cs. Jakab: Bilateral corneal dermoid and eyelid malformation in a colt: a case report. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Helsinki, Finland May 28-31 2015. *Veterinary Ophthalmology*, 2015. 18; 5; 4-17.

Wirth K., Izing S., Tóth B., **Makra Z.:** Lovak húgykövességének diagnosztikája, klinikuma és sebészeti gyógykezelésének lehetőségei. 2. Esetismertetések Magyar Állatorvosok Lapja 2015. 137; 1; 3-13.

Makra Z., Wirth K., Tóth B.: Lovak húgykövességének diagnosztikája, klinikuma és sebészeti gyógykezelésének lehetőségei. 1. Irodalmi összefoglaló Magyar Állatorvosok Lapja 2014. 09. 514-526.

M. P. Dunay, T. Németh, **Z. Makra**, S. Izing, G. Bodó: Laparoscopic cryptorchidectomy and ovariectomy in standing horses using the Enseal® tissue-sealing device. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2012. 60; 41-53.

Szenci O., Biksi I., Bohák Zs., Horváth A., **Makra Z.**, Hevesi Á.: A ló- és haszonállatgyógyászat jelene és lehetőségei. *Magyar Tudomány*, 2012. 173; 25-33.

Makra Z., Bodó G., Szenci O.: Lovak szemének ultrahangvizsgálata. Irodalmi áttekintés és saját tapasztalatok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2007. 129; 06-15.

Makra Z., Szentgáli Zs.: Lovak fekélyes szaruhártya-gyulladásainak konzervatív gyógykezelése. Irodalmi áttekintés és esetismertetés. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2004. 126; 195-204.

Lukács JZ, Felkai F, **Makra Z.**, Szenci O: Laparoszóppal végzett ovariectomia macskán. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2004. 126; 5; 314-315.

Konferenciaközlemények

Z. Makra: Ocular pain model and pain scoring in horses. WEVA 13. Konferencia, Budapest, 2013. október 03-05. Konferenciaközlemény, CD

Z. Makra, K. Veres-Nyéki: The real tricks and most useful TIVA tips in general anesthesia under field conditions. WEVA 12. Congress, Hyderabad, India, 2011. november 02-05. Konferenciaközlemény, CD

Z. Makra: Retrobulbar lymphoma. Case presentation. Dorothy Havemeyer Foundation Equine Ophthalmology Symposium (IEOC). Florida, Amerikai Egyesült Államok, 2011. április 01-02. pp. 23-24. Konferenciaközlemény

Poszterek

Z. Makra, I. Biksi, A. Goodhead: Clinical features and treatment possibilities of equine ocular Habronemiasis in Hungary and South-Africa. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Budapest, Hungary May 19-22 2016.

Makra Z.: Lovak fekélyes szaruhártya-gyulladásainak konzervatív gyógykezelése. XI. Magyar Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2003.

Köszönetnyilvánítás

Minden sikeres nő mögött is van egy támogató férfi és család, nem csak fordítva! Egyedül nem tudtam volna ilyen intenzíven tanulva és dolgozva összetartani a családot, felnevelni a gyerekeket, egyensúlyban tartani a feladatokat. A párom folyamatos tevőleges támogatása nélkül talán nem is vállaltam volna ezt a feladatot. Köszönet Imrének a szeretetért és türelemért.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Bodó Gábornak a biztatásért és a szakmai igényességre való nevelésért, továbbá a közreműködésért, ami nélkül ezek az eredmények soha nem valósulhattak volna meg.

Hálás vagyok minden páciensemnek, a lovaknak, akik kezelésük során megtanítottak a szemészetből nagyon sok mindenre, amiket sem könyvekből, sem szacikkekből nem lehet megtanulni, de bárcsak gyorsabban tudtam volna tanulni tőlük!

Köszönet illeti Dr. Biksi Imrét a mikrobiológiai és citológiai vizsgálatok precíz elvégzéséért, Dr. Tuboly Tamást az ELISA vizsgálatokért, Abonyi-Tóth Zsoltot a statisztikai analíziséért, Gyulai Katalin grafikuszt az ábrák igényes és gyors elkészítéséért és a Lógyógyászati Klinika minden munkatársát a segítségükért.