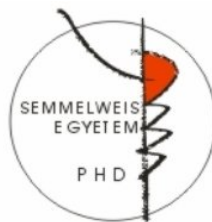


A retina vizsgálata patkánymodellben, streptozotocin-indukált diabétesz korai stádiumában

Doktori tézisek

Dr. Bakos-Kiss Anna
(Születési név: Dr. Énzsöly Anna)

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Németh János, MTA doktora, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Gábrriel Róbert, MTA doktora, egyetemi tanár

Dr. Alpár Alán, Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Csillag András, MTA doktora, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Milibák Tibor, Ph.D., osztályvezető főorvos

Dr. Nagy Nándor, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest
2015

1. BEVEZETÉS

A diabetes mellitus, mint népbetegség, valamint vaksághoz vezető szövődménye, a diabéteszes retinopátia óriási globális terhet jelent szociális és gazdasági, egyéni és társadalmi szempontból is.

A diabéteszes retinopátia kezelése a mai szemészeti gyakorlatban elsősorban a fundusképen detektálható jelek alapján történik. Ugyanakkor mára világossá vált, hogy a klinikailag definitív vaszkulopátiát szubklinikus vaszkuláris elváltozások időben megelőzik, a diabétesz következményeként komplex folyamat zajlik: funkcionálisan és strukturálisan is károsodik a retina. Diabéteszben a látás bizonyos funkcionális elemei, mint a színlátás, a kontrasztérzékenység és egyes elektrofiziológiai paraméterek bizonyítottan kóros vonásokat mutatnak. A funkciózavarok már korai diabéteszben, a manifeszt vaszkulopátiát megelőzően kialakulnak, a vaszkuláris retinopátiával együtt progrediálnak, sőt, akár a retinopátia progresszióját jelezhetik előre. A funkcionális eltérések hátterében álló patológia egyelőre a kevésbé ismert területek közé tartozik.

A neurodegeneráció ismert aspektusa experimentális diabéteszben és posztmortem diabéteszes humán retinákban is, hogy a vaszkuláris rendszertől függetlenül apoptotikus testek mutathatók ki. A neuroretina diabéteszes károsodását a keresztmetszeti képen mérhető szignifikáns retinavékonyodás támasztja alá. A retina vékonyodását az irodalmi leírások szerint elsősorban a magvas retina rétegek atrófiája okozza: a belső (INL) és a külső (ONL) magvas rétegek vastagságcsökkenését legkorábban 6 hónappal a diabétesz indukciót követően, a ganglionsejt réteg (GCL) érintettségét kísérleti beállítástól függően 4 héttel - 9 hónappal az indukciót követő időpontra datálják. A GCL és az INL rétegek vastagságcsökkenésére diabéteszes páciensekben már klinikailag negatív funduskép mellett is van irodalmi adat, spektrál domén optikai koherencia tomográffal vizsgálva.

A neuroretina károsodását bizonyítandó, több sejttípus diabéteszes érintettségéről is beszámolnak egyes morfológiai tanulmányok. Bizonyos típusú amakrin és ganglionsejtek károsodása mellett ismert az is, hogy diabéteszben korán kialakul gliaktiváció: állatkísérletes adatok szerint akár 1 hónappal a diabétesz indukciót követően már kimutatható módon. Diabéteszes páciensekben is megfigyeltek gliózisra utaló jeleket már enyhe non-proliferatív retinopátia fennállásakor is.

Korai diabéteszben a neuroretinális károsodások számos komponense ezidáig még ismeretlen volt, továbbá a leírt neurális és funkcionális eltérések közötti összefüggések megismerése is még várat magára. A szubklinikus elváltozások tanulmányozása azonban rendkívül aktuális feladat, tekintve, hogy a korai neuroretinális elváltozások a diabéteszes retinopátia későbbi, látást veszélyeztető stádiumaival direkt összefüggésbe hozhatóak.

2. CÉLKITŰZÉS

Korai diabéteszben a látás egyes funkcionális elemei már akkor károsodást mutatnak, amikor klinikailag manifeszt vaszkulopátia még nem alakult ki. Kérdés, hogy a funkcionális eltérések háttérében állhat-e szövettani vizsgálatokkal kimutatható eltérés a neurális retina egyes sejttypusaiban. Célunk az volt, hogy keresztmetszeti képet nyújtsunk streptozotocinnal indukált diabétesz 12. hetében a retina patológiájáról, az alábbi pontok alapján.

- Kimutatható-e szignifikáns mértékű sejtpusztulás ilyen korai stádiumú diabéteszben?
- Van-e gliaaktivációra utaló intermedier filamentum protein-expresszióváltozás a diabéteszes retinában?
- Van-e kimutatható változás korai diabéteszben a fotoreceptorok morfológiáját, finom szerkezetét, valamint a különböző típusú csapok eloszlását és denzitását tekintve?
- Van-e kimutatható változás korai diabéteszben a retinális pigmenthám morfológiájában és ultrastruktúrájában?
- Kimutatható-e morfológiai és számbeli változás a neuroretina belső magvas rétegeiben található egyéb sejttypusok (horizontális sejtek, bipoláris sejtek, amakrin sejtek, ganglionsejtek) esetében korai diabéteszben?

3. MÓDSZEREK

3.1. Diabétesz indukció, mintavétel

Vizsgálatainkat hím Wistar és Sprague-Dawley típusú patkánytörzseken végeztük. Kor alapján végeztük az állatok kiválogatását: azonos korú (a kísérlet 0. napján betöltött 12 hetes), hasonló testsúlyú állatokkal dolgoztunk. A diabétesz indukciót mindkét patkánytörzs egy csoportjában egyszeri, nátrium-citrát pufferben (0,1 M, pH 4,5) oldott streptozotocin (70 mg/ttkg) intraperitoneális injektálásával végeztük, míg a kontroll csoport állatai streptozotocin nélkül kaptak vivóanyagot, hasonlóképpen (Wistar patkányok n=7/csoport, Sprague-Dawley patkányok, n=12/csoport). 12 héttel az injekciókat követően túllattuk az állatokat, az oldaliság és az orientáció megtartásával kétoldali enukleációt végeztünk, majd minden esetben eltávolítottuk a corneát, a lensét és az üvegtesti állományt. Az így nyert hátsó szegmensek közül a Wistar patkány hátsó szegmensek mindegyikét, a Sprague-Dawley patkány hátsó szegmensek egy részét foszfát pufferben (PB; 0,1 M, pH 7,4) oldott 4%-os paraformaldehid (PFA) oldatban fixáltuk (2 órán át, szobahőmérsékleten). Mindkét patkánytörzsben csoportonként n=7 hátsó szegmensről leválasztottuk a retinát (ún. whole mount retina), a többi esetben a hátsó szegmens egészével dolgoztunk. Az így fixált hátsó szegmenseket cryoprotekciót követően beágyazó médiumban lefagyasztottuk, majd fagyasztott metszeteket készítettünk.

3.2. TUNEL módszer

Az apoptotikus testek kimutatása céljából in situ kit segítségével az ún. „terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated biotinylated UTP nick end labeling” (TUNEL) módszert végeztük el. Fagyasztott metszeteken végeztük a vizsgálatokat.

3.3. Lektincitokémiai és immunhisztokémiai analízis

A retina egyes neurális elemei és a pigmenthám vizsgálata céljából lektin- és immuncitokémiai analízist végeztünk, opszin- és sejtspecifikus antitestek felhasználásával. A reakciókat whole mount retinákon és hátsó szegmens fagyasztott metszeteken végeztük el.

3.4. Elektronmikroszkópia

Wistar patkányokban a PFA fixálást követően, n=4/csoport hátsó szegmensből 1x1 mm-es centrális darabokat vágunk ki, a látóidegfőtől dorzálisan. Az ily módon megközelítően identikusan lokalizált darabokat PB-ben oldott 1,5%-os glutáraldehid oldatban utófixáltuk (90 percen át, szobahőmérsékleten).

Sprague-Dawley patkányokban (n=4/csoport) a még nem fixált hátsó szegmenseket PB-ben oldott 2,4%-os PFA és 1,65%-os glutáraldehid oldatok keverékében fixáltuk (30 percen át, 37 °C-on). A glutáraldehides fixálást követően a mintákat kakodilát pufferben oldott 1%-os ozmium-tetroxid oldattal utófixáltuk (1 órán át, 4 °C-on). Mosás után a hátsó szegmenseket a Wistar patkány mintákhoz hasonlóan feldaraboltuk 1x1 mm-es részekre, majd a darabokat aralditba ágyasztuk. Félvékony és ultravékony metszeteket készítettünk, majd elektronmikroszkóppal tanulmányoztuk a retinális pigmenthám (RPE) és a fotoreceptorok finom szerkezetét. A pigmenthám vastagságát megközelítően identikus területeken mértük kontroll és diabéteszes retinákban (n=4/csoport, 3 mérés/metszet).

3.5. Retinavastagság mérése

A vastagságmérésekhez olyan fagyasztott metszeteket vettünk, melyek minden esetben a látóidegfő szintjéből származtak. A látóidegfőtől adott távolságokban vettünk látótér mintákat: a centrálisabb értékek a látóidegfőtől

superior és inferior irányba eső 250 és 500 μm távolságokról, a perifériás értékek pedig az ora serrata mellől 250 μm -nyi távolságról származtak. Mértük a retina teljes vastagságát (a külső és belső határhártyák közötti távolságot) és a külső magvas réteg vastagságát önállóan ($n=4$ /csoport, 3 metszet/retina).

3.6. Csapok eloszlásának és denzitásának vizsgálata

A közepes (M) és rövid (S) hullámhosszra érzékeny opszin tartalmú csapok, valamint az M- és S-opszint koexpresszáló ún. duális csapok eloszlását és denzitását Wistar patkányok teljes retináján ($n=4$ diabéteszes és kontroll patkányon) tanulmányoztuk. Opszin-specifikus antitestekkel immuncitokémiai jelölést alkalmaztunk, majd Neurolucida szoftver segítségével szisztémás random mintavételezéssel átlagosan $83,2 \pm 4,7$ mikroszkopikus látómezőt vettünk. Az M-csapok esetén $250 \times 250 \mu\text{m}$ -es, míg az S-csapok esetében $130 \times 130 \mu\text{m}$ -es látómezőkben manuálisan megszámoltuk a jelölt kültagokat. Azokon a területeken, ahol nem nyertünk számadatokat, az ún. „Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System” rendszerrel becslést végeztünk, s ez alapján izodenzitás térképet készítettünk a csapok denzitásáról.

3.7. Belső retinális sejtípusok kvantitatív elemzése

A parvalbumin, calbindin és recoverin antitestekkel jelölt sejtek számszerű vizsgálata céljából Wistar patkányok ($n=3$ /csoport) whole mount retináinak temporális és nazális felén végeztünk immunreakciókat. A pozitív sejteket random mintavételezéssel a teljes retinafelénként 10 darab $250 \times 250 \mu\text{m}$ -nyi területen számoltuk meg.

A protein kináz C-alfa (PKC- α) antitesttel jelölt amakrin és „displaced” amakrin sejtek számolásához orientált metszeteket vettünk, a nervus opticus magasságából ($n=3$ /csoport Wistar patkányokban). Metszetenként 6 különböző

helyen (1, 2 és 3 látómezővel a nervus opticus alatt és fölött) összesen 700 μm hosszú szakaszokon számoltuk meg.

3.8. Statisztikai analízis

A testsúlyra, vércukorra és retinavastagságra vonatkozó adatokat, valamint a TUNEL-, parvalbumin-, calbindin-, recoverin- és PKC- α -pozitív elemek számadatait STATISTICA 11 szoftverrel, Student-féle t -teszttel értékeltük. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Kontroll és diabéteszes csoportok validálása

A kísérlet kezdetén mindkét patkánytörzs állatainak normális vércukorszintet mértünk. Az injekciót követő 1. napon a vivóanyagot kapott állatok vércukra normál tartományban maradt. A streptozotocinnal injektált állatok vércukorszintje 20 mmol/l fölé ugrott és a 12. héten mért adatok szerint e fölötti tartományban is maradt.

4.1. Apoptózis jelenlétére utaló jelek vizsgálata

Mérési eredményeink szerint a diabétesz 12. hetében az apoptotikus sejtek száma nem emelkedett szignifikáns mértékben a korban illesztett kontrollhoz képest. Ezzel egybecsengően, adataink szerint, szignifikáns rétegvastagság-csökkenés sem következett ekkor még be.

4.2. Gliaktiváció vizsgálata diabéteszben

Diabéteszes retina mintáinkban intermedier filamentum proteinek expresszió változásait mutattuk ki: fokozott glia fibrilláris savas protein- (GFAP-) és csökkent vimentinexpressziót regisztráltunk. A gliaktivációra utaló jelek nem homogén módon, hanem foltokban fordultak elő a retinában. Superior-inferior irányban orientált metszeteinken semmilyen konzekvens lokalizációt nem fedeztünk fel a károsodások tekintetében, de egymást követő metszeteket áttekintve, az érintett területeken jellemzően mindkét vizsgált intermedier filamentum protein változását egységesen megfigyelhettük.

4.3. Fotoreceptorok vizsgálata diabéteszben

Az **M-opszin tartalmú csapok eloszlását** kontroll whole mount retináinkon a centro-perifériás irányban csökkenő grádiens jellemezte: a csapszám centrálisan elérte az 5000 csap/mm² sűrűséget, míg a periférián 2000

csap/mm² alá esett. Az **S-opszint tartalmazó csapok eloszlása** inferior-superior irányban csökkenő grádienszt mutatott: az átlagos értékek az alsó retinafélen 800 csap/mm² fölé, míg a felső retinafélen 200 csap/mm² alá estek. A felső retinafél periferiás részén a széli mintegy 200 µm széles sávban azonban jóval magasabb értékeket mértünk (> 1200 csap/mm²). Ezek az értékek az irodalmi adatok alapján vártak megfelelően alakultak. A diabéteszes retinákban mindkét csaptípust illetően a kontrollhoz hasonló denzitási és eloszlási mintázatot figyeltünk meg. A retinánként összesen megszámlolt csapok átlagos száma nem mutatott különbséget a csoportokban: 5621 ± 754 és 5467 ± 660 M-csapot, valamint 3048 ± 776 és 2725 ± 259 S-csapot számoltunk a kontroll és diabéteszes retinákban.

Az **M- és S-opszint egyaránt expresszázó (ún. duális) csapok** nagy számban reprezentálva tűntek fel a diabéteszes retina periferiás régiójában. Duális csapok kis számban a kontroll retinák periferiáján is megfigyelhetők voltak. A kontroll retinák periferiás régiójában az általunk retinánként megszámlolt átlagos össz-csapszám mintegy 0,5%-át, míg diabéteszben közel 4%-át tették ki a kettősen jelölt elemek. Nemcsak a periferián, hanem a retina teljes területén feltűnt egy-egy koexpressziót mutató csap: kontroll retinákban elvétve, míg a diabéteszes retinában a kontrollhoz képest mindenképpen nagyobb számban fordultak elő.

Az **M-csap kültagok** opszinellenes antitesttel jelölve, egészséges patkány retinákban jellemzően vonalszerű képződményként voltak láthatók, rajtuk egyenetlenség és fragmentáció nem volt megfigyelhető, a kültagokat egyenletesen PNA-pozitív csaphüvely vette körül. Ezzel szemben, a diabéteszes állatainkban az M-csapok kültagjai jellemzően kibunkósodtak, a végeket vékony szakasz kötötte össze, de a kültag elváltozása a csaphüvelyt nem érintette.

Az **S-csapok kültagjai** opszin ellenes antitesttel jelölve az egészséges patkány retinákban két fragmentumként ábrázolódtak. Diabéteszes patkányaink S-csapjainak többsége a kontrollhoz hasonlóan festődött, de a Wistar patkány retinákban metszetenként egy-két esetben az S-csap markereinkkel kültagjel nélküli sejttest festődést láttunk.

A **pálcikák kültagjai** kontroll és diabéteszes retinákban is rodopszin immunpozitivitást mutattak. Fagyasztott metszeteken vizsgálva a diabéteszes pálcika kültagok nem mutatták az egészséges pálcikák rendezettségét, a jelölés intenzitása kissé gyengült diabéteszben a kontrollhoz képest. A lektincitokémiai vizsgálat során, a pálcikák interfotoreceptor mátrixát jelölő WGA reakció csökkent jelet adott diabéteszben a kontrollhoz képest. Ugyanakkor a másik általunk vizsgált lektinnel, a PNA-val kapott jel diabéteszben nem korlátozódott a csaphüvelyre, hanem halványan a pálcika interfotoreceptor mátrix is pozitívitást mutatott. A kül- és beltágok rendezetlenségét elektronmikroszkóppal is megfigyeltük és dokumentáltuk a diabéteszes csoportokban.

4.4. A retinális pigmenthám vizsgálata diabéteszben

Elektronmikroszkópos felvételeinken mért adatok szerint az RPE sejtei szignifikánsan vékonyabbak voltak diabéteszes Wistar patkányokban a kontrollhoz képest. Ennek a képnek megfelelően, az RPE65 immunreaktivitás is jelentősen csökkent diabéteszben. A Sprague-Dawley patkányokban a pigmenthám érintettsége kevésbé volt kifejezett: az elektronmikroszkópos felvételeinken mért pigmenthámvastagság-csökkenés mértéke nem érte el a szignifikancia-küszöbszintet, és az RPE65 immunreaktivitás is diszkrétebb intenzitáscsökkenést mutatott diabéteszben, mint a Wistar patkányokban.

4.5. Belső retina rétegek sejtípusainak vizsgálata diabéteszben

A parvalbumin kalcium-kötő protein ellenes antitesttel történt vizsgálataink során - a gliaktivációra utaló expresszióváltozásokhoz hasonlóan - szintén foltokban láttunk diabéteszes károsodást: a jelölés intenzitása egyenetlen volt, helyenként csökkent. Ugyanakkor a parvalbumin-pozitív AII amakrin sejtek számában nem volt mérhető szignifikáns csökkenés diabéteszben a kontrollhoz képest. Diabéteszes mintáinkban a calbindin-pozitív horizontális sejtek és a recoverin-pozitív bipoláris sejtek számát a kontrollhoz képest változatlanak, a recoverin-pozitív nyúlványrendszert azonban kevésbé kifejezettnek találtuk.

Calbindin markerrel jelölve, a diabéteszes retina ciliáris részében calbindin-pozitivitás jelent meg. A calretinin kalcium-kötő protein ellenes markerrel, valamint bizonyos ganglionsejteket jelölő Brn-3a és melanopszin markerekkel jelölt sejtípusok nem mutattak károsodást diabéteszes mintáinkban.

PKC- α markerrel a pálcika bipoláris sejtek jelölése nem változott, azonban az INL-ben jelölt amakrin sejtek és a GCL-ben jelölt vélhetően „displaced” amakrin sejtek száma szignifikánsan magasabb volt diabéteszben a kontrollhoz képest.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

- A diabéteszes retinopátia patogenezisében a klinikailag manifeszt vaszkuláris jelek kialakulása előtt, neurodegeneratív komponensek is helyet kapnak. Az általunk bemutatott neurális eltérések a diabéteszes neurodegeneráció ezidáig felfedezetlen korai jeleihez tartoznak, hátteret szolgáltathatnak a retina máshol leírt funkcióbeli károsodásához.
- Az általunk leírt korai diabéteszes eltérések nem járnak szignifikáns rétegvastagság-csökkenéssel járó apoptotikus sejtvesztéssel.
- Diabéteszes mintáinkban a gliaaktiváció új aspektusait demonstráltuk: az intermedier filamentum expresszió változások foltokban voltak jelen. Felmerül, hogy ez a stádium előzi meg a teljes retinát érintő elváltozások kialakulását.
- Elsőként írtuk le diabéteszes retinában a fotoreceptorok kültagjainak morfológiailag kimutatható károsodását. A morfológiai károsodás normális eloszlás és denzitás mellett következett be.
- Adataink nem erősítik meg egyértelműen, hogy ok-okozati kapcsolatban lennének a pigmenthám diabéteszes elváltozásai a fotoreceptorok kültagkárosodásával.
- Rámutattunk arra, hogy a belső retina rétegek különböző sejtípusai eltérő eloszlásban mutattak károsodást. Eredményeink az egyes sejtípusok eltérő érzékenységre utalnak.

- Elsőként vetjük fel, hogy a diabéteszes retina a fejlődő retina bizonyos vonásait hordozza. Ezek alapján feltételezhető, hogy az ora serrata közelében a retina regenerációs kapacitása felnőttkorban is bizonyos mértékben megmaradhat, és diabéteszben regenerációra irányuló folyamatok léphetnek fel, az alábbi jelek alapján:
 - 1) Nagy számban fordulnak elő az M- és S-opszint koexpresszáló ún. duális csapok a diabéteszes retinák perifériás részén. A koexpresszió jelenségét a retina fejlődése során leírt transzdzifferenciáció részeként tartja számon az irodalom, diabéteszes retinában ezidáig nem ismert jelenségről van szó.
 - 2) A PKC- α (a pálcika bipoláris sejtek markere) és a calbindin (kalcium-kötő fehérje) jelölési mintázata diabéteszben változást mutat a kontrollhoz képest, a fejlődő retinára emlékeztet.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények

1. **Énzsöly A**, Szabó A, Szabó K, Szél Á, Németh J, Lukáts Á. (2015) Novel features of neurodegeneration in the inner retina of early diabetic rats. *Histol Histopathol.* 30: 971-85. **IF: 2,096**

2. **Énzsöly A**, Szabó A, Kántor O, Dávid C, Szalay P, Szabó K, Szél Á, Németh J, Lukáts Á. (2014) Pathologic alterations of the outer retina in streptozotocin-induced diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 55: 3686-99. **IF: 3,404**

Egyéb közlemények

1. **Enzsoly A**, Kammerer K, Nemeth J, Schneider M. (2015) Bilateral cystoid macular edema following docetaxel chemotherapy in a patient with retinitis pigmentosa: a case report. *BMC Ophthalmol.* 15: 32. **IF: 1,02**

2. Kántor O, Varga A, Tóth R, **Enzsöly A**, Pálfí E, Kovács-Öller T, Nitschke R, Szél A, Székely A, Völgyi B, Négyessy L, Somogyvári Z, Lukáts A. (2015) Stratified organization and disorganization of inner plexiform layer revealed by TNAP activity in healthy and diabetic rat retina. *Cell Tissue Res.* 359: 409-21. **IF: 3,565**

3. Kántor O, Varga A, Kovács-Öller T, **Enzsöly A**, Balogh L, Baksa G, Szepessy Z, Fonta C, Roe AW, Nitschke R, Szél A, Négyessy L, Völgyi B, Lukáts A. (2014) TNAP activity is localized at critical sites of retinal neurotransmission across various vertebrate species. *Cell Tissue Res.* 358: 85-98. **IF: 3,565**

4. Szabó K, Szabó A, **Énzsöly A**, Szél A, Lukáts A. (2014) Immunocytochemical analysis of misplaced rhodopsin-positive cells in the developing rodent retina. *Cell Tissue Res.* 356: 49-63. **IF: 3,565**
5. **Énzsöly A**, Markó K, Tábi T, Szökő É, Zelkó R, Tóth M, Petrash JM, Mátyus P, Németh J. (2013) Lack of association between VAP-1/SSAO activity and corneal neovascularization in a rabbit model. *J Neural Transm.* 120: 969-75. **IF: 2,871**
6. Chang KC, Laffin B, Ponder J, **Énzsöly A**, Németh J, LaBarbera DV, Petrash JM. (2013) Beta-glucogallin reduces the expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory markers by inhibition of aldose reductase in murine macrophages and ocular tissues. *Chem Biol Interact.* 202: 283-7. **IF: 2,982**
7. **Énzsöly A**, Dunkel P, Czompa A, Deme R, Gyires K, Magyar K, Németh J, Mátyus P. (2012) Szemikarbazid-szenzitív aminoxidáz-gátlók mint új hatóanyagok gyulladásoos szembetegségek kezelésére: a szelektív inhibitoroktól az új típusú többtámadáspontú gyulladásgátló gyógyszerjelöltig. *Magyar Tudomány, Semmelweis Egyetem különszám.* 173: 48-52.
8. **Énzsöly A**, Dunkel P, Récsán Z, Gyórrffy H, Tóth J, Marics G, Bori Z, Tóth M, Zelkó R, Di Paolo ML, Mátyus P, Németh J. (2011) Preliminary studies of the effects of vascular adhesion protein-1 inhibitors on experimental corneal neovascularization. *J Neural Transm.* 118: 1065-1069. **IF: 2,597**
9. Rosta K, Molvarec A, **Énzsöly A**, Nagy B, Rónai Z, Fekete A, Sasvári-Székely M, Rigó J Jr, Vér A. (2009) Association of extracellular superoxide

dismutase (SOD3) Ala40Thr gene polymorphism with pre-eclampsia complicated by severe fetal growth restriction. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 142: 134-8. **IF: 1,565**

10. Rosta K, Tulassay E, **Énzsöly A**, Rónai K, Szánthó A, Pándics T, Fekete A, Mandl P, Vér Á. (2009) Insulin induced translocation of Na⁺/K⁺-ATPase is decreased in the heart of streptozotocin diabetic rats. Acta Pharmacol Sin. 30: 1616-24. **IF: 1,783**

11. Rosta K, **Énzsöly A**, Rónai K, Vér Á. (2008) Az inzulin szerepe a központi idegrendszerben. Magy Belorv Arch. 61: 7-12.