

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**AZ EMBERI SZEM IN VIVO ÉS EX VIVO VIZSGÁLATAINAK
PROGNOSZTIKAI JELENTŐSÉGE ELÜLSŐ ÉS HÁTSÓ
SZEGMENTUMOT ÉRINTŐ KÓRKÉPEKBEN**

Dr. Szalai Eszter



**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Szemészeti Klinika**

Pécs, 2024.

BEVEZETÉS

A szem elülső és hátulsó szegmentumának megfigyelése az általános szemészeti kivizsgálás elengedhetetlen része, amely tradicionálisan réslámpával történik. Ezen módszerrel azonban az itt helyet foglaló struktúrák objektív és számszerűsíthető jellemzése akadályokba ütközik. A napjainkban egyre inkább elterjedő modern képalkotó rendszerek ezen korlátokon túljutva kvalitatív és kvantitatív elemzéseket nyújtanak a szaruhártyáról, az elülső csarnokról, a csarnokzugról, az íriszről, az iridocorneális szögről, a lencséről, a látóidegfőről, az ideghártya rétegeiről és a chorioideáról. Az új fejlesztésű diagnosztikai berendezések és technológiák nemcsak az anterior és poszterior szegmentum különböző elsődleges kórallapotainak megállapítására és követésére alkalmasak, hanem lehetővé teszik szisztémás betegségek szemészeti manifesztációinak vizsgálatát, ezzel elősegítve a korai felismerést, beavatkozást, illetve a további morbiditás prevencióját.

A szem elülső és hátsó szegmentumát nemcsak lokális kórfolyamatok érinthetik, hanem szisztémás betegségek szemészeti manifesztációi is előfordulnak. Mind metabolikus, immunológiai, mind primer és szekunder daganatos betegségek járhatnak szemészeti érintettséggel. A szaruhártya a szemfelszín részeként a külvilággal, illetve a könnyfilmmel érintkezik, a limbusnál a conjunctiva és episclera gazdag érhálózatával szoros kapcsolatban áll, amely fogékonyá teszi különböző etiológiájú megbetegedésekre. A szaruhártya idegei a nervus trigeminus szenzoros rostjai mellett a ganglion cervicalis superior szimpatikus axonjait is tartalmazzák és elsődleges szerepet töltenek be a szemfelszín morfológiai és funkcionális integritásának fenntartásában, ezáltal protektív és trofikus funkciókat látnak el. Egy átfogó szemészeti vizsgálat során tehát a fundus kis ereinek megfigyelésén túl képesek vagyunk a látóidegen keresztül a központi idegrendszerről és a corneális idegeken keresztül a perifériás idegrendszer állapotáról kvalitatív és kvantitatív információkat nyerni.

A *száraz szem* definíció szerint a könnynek és a szemfelszínnek a multifaktoriális betegsége, amely diszkomfortot, látászavarokat és könnyfilm instabilitást okoz a szemfelszín lehetséges károsodásával együtt. Továbbá megnövekedett könnyfilm ozmolaritás, illetve a szemfelszín gyulladása kíséri. A Dry Eye Workshop (DEWS) Reportnak megfelelően a száraz szem betegség két nagy etiopatogenetikai csoportra osztható: a könny hiányán, illetve fokozott párolgásán alapuló (evaporatív) száraz szem. A könny hiányán alapuló száraz szem betegség tovább osztható Sjögren-szindróma és nem-Sjögren-szindróma csoportokra. A Sjögren-szindrómához kapcsolódó száraz szem a könnymirigy autoimmun gyulladásával jellemezhető.

A *diabétesz mellitusznak* (DM) két fő formáját különböztetjük meg: az 1-es típusú (T1DM) és a 2-es típusú (T2DM) cukorbetegséget. T1DM esetén a hasnyálmirigy β sejtjeinek károsodása miatt abszolút inzulin hiány jön létre. A 2-es típusú cukorbetegséget inzulinrezisztencia, ehhez kapcsolódó relatív inzulin hiány és/vagy kóros inzulin szekréció, valamint emelkedett vércukorszint jellemzi. A cukorbetegségnek ismertek makrovaszkuláris és mikrovaszkuláris szövődményei. A mikrovaszkuláris szövődmények jól ismert triásza a nefropátia, a neuropátia és a retinopátia. A cukorbetegség a szem minden szövetét károsíthatja, a betegség következtében kialakulhat korai szürkehályog, retinopátia, neovaszkuláris glaukóma, optikus neuropátia, diabéteszes papillopátia, szemmozgászavar, keratopátia és száraz szem szindróma is. A vékonyrost polineuropátia és a retinopátia (DR) a diabétesz hosszútávú mikrovaszkuláris szövődményei közé tartoznak. Bár a DR-t alapvetően a retina mikrovaszkuláris károsodásnak tartjuk, számos tanulmány arra enged következtetni, hogy a retina neurovaszkuláris megbetegedéséről van szó.

A modern szemészeti vizsgálóeljárásokkal a retina kapilláris hálózata, a choriokapilláris, a látóidegfő és a szaruhártya perifériás idegei kvalitatív és kvantitatív módon vizsgálhatók. Korábbi kutatások bizonyították, hogy diabéteszes betegeknél in vivo konfokális mikroszkópiával (IVCM) a cornea sejtes elemei és a szubbazális idegrostok morfológiája

eltérést mutatnak a szemfenéken látható elváltozások hiányában is, már jóval a neuropátia, a retinopátia vagy a mikroalbuminuria megjelenése előtt. Az IVCN alkalmas a perifériás idegek és a gyulladós sejtek minőségi és mennyiségi elemzésére egészséges és gyulladásban lévő szaruhártya esetén is. Az optikai koherencia tomográfia angiográfia (OCTA) a konfokális mikroszkópiához hasonlóan non-invazív eljárás, amely kontrasztanyag adása nélkül teszi láthatóvá és kvantifikálhatóvá a retinális kapilláris hálózatokat és a choriokapillárisokat. Az OCTA a vérerekben lévő vörösvértestek mozgását használja fel a képalkotásához a környező statikus struktúrákhoz viszonyítva. Diabéteszben a kapilláris elzáródás és non-perfúzió az egyik korai esemény, amely ischaemiához és szöveti károsodáshoz vezet.

A súlyos akut légzőszervi szindrómát okozó *koronavírus – 2 (SARS-CoV-2)* által okozott betegség a tünetek széles spektrumát okozhatja, a fertőzés alatt a betegek csaknem 90%-a számol be legalább egy neurológiai tünetről. Az idegrendszeri érintettség eredete lehet a központi vagy a perifériás idegrendszer direkt károsodása, a vírus antigén hatása által keltett gyulladós válasz eredménye, valamint a fokozott véralvadás és az endotel diszfunkció. A SARS-CoV-2 megtámadja az endotel sejteket, így mind az artériás, mind pedig a vénás oldalon mikro- és makrovaszkuláris szövődmények alakulhatnak ki. Ismert, hogy a koronavírus betegség-2019-nek (COVID-19) szemészeti szövődményei is lehetnek. A szemfelszín számos környezeti hatás és infektív ágens számára kitett terület. A könnyfilmnek szerepe lehet a vírus replikációban SARS-CoV-2 fertőzés esetén. Számos antigén prezentáló sejtet be lehet azonosítani az egészséges corneában, mint például a dendritikus sejtek (DC) és a makrofágok. A corneális DC-k a bazális epitelium és a szubbazális idegi plexus szintjén helyezkednek el. Fertőzés, gyulladás vagy sérülés esetén nagy számban vándorolnak a perifériás cornea felől a szaruhártya centrális része felé.

A *szisztémás szklerózis* vagy szkleroderma (SSc) egy komplex, krónikus, ismeretlen eredetű autoimmun betegség. A kötőszöveti betegségek közé sorolják és több szervet érint. A

manifesztációk széles skáláját mutatja, beleértve a szem szöveteit is. Mivel az SSc korai stádiumában az okuláris szövödmények gyakran enyhék és háttérbe szorulnak a bőr és a belső szervek manifesztációi mögött, az okuláris eltérések jellemzően észrevétlenek maradnak vagy csak a betegség késői fázisában kerülnek felismerésre. Amellett, hogy a szaruhártya különböző paraméterei megváltozhatnak és a betegség során látást veszélyeztető szövödmények is kialakulhatnak, az SSc-ben a szaruhártya eltérések leírása alulreprezentált az irodalomban.

A *migrén* egy gyakori, rokkantságot okozó elsődleges fejfájás, amely lüktető fájdalommal jár, általában a fej egyik oldalán. Bár a migrén patofiziológiája még nem teljesen tisztázott, a trigeminovaszkuláris elmélet, amely a trigeminovaszkuláris pálya visszatérő szenzitizációját és aktiválódását írja le, széles körben elfogadott, alapvető szerepet játszik ebben a rendkívül összetett neurológiai zavarban. A trigeminális ideg látja el a szaruhártya alatti bazális idegplexust, amely elsősorban az érintés-érzékelésért, a fájdalomért és a könnyfilm integritásáért felelős.

Az *uvea melanoma* (UM) a leggyakoribb felnőttkori primer intraokuláris daganat, amelynek incidenciája közel 5 per 1 millió fő. A primer UM diagnózisának idején csupán a betegek 5%-ánál találunk áttétet, a betegségfolyás során hozzávetőleg 40%-ban alakul ki metasztázis, amelynek legprevalensebb helye a máj. Öt olyan gént azonosítottak eddig, amely gyakran mutálódik UM-ban: BRCA1-associated protein-1 (BAP1), eukaryotic translation initiation factor 1A X-chromosomal (EIF1AX), guanine nucleotidebinding protein subunit a-11 (GNA11), guanine nucleotide-binding protein subunit alpha Q (GNAQ) és splicing factor 3B subunit 1 (SF3B1). A GNAQ és GNA11 mutációi a tumor kialakulásának korai szakaszában fordulnak elő, míg a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációi valószínűleg a tumor progressziójának későbbi szakában. Az EIF1AX mutációja a jó prognózis indikátora, míg az SF3B1 és BAP1 mutációi köztes és rossz prognózissal járnak együtt. A GNAQ és a GNA11 mutációját nemrégiben mutatták ki a chorioidea naevusokban.

A jelenleg elfogadott UM modell feltételezi, hogy már a betegség korai szakában a véráramban tumorsejtek cirkulálnak. A túlélés prognosztikája során figyelembe vesszük a klinikai jellegzetességeket (legnagyobb tumor átmérő és alap, corpus ciliare érintettség, extraokuláris terjedés és nervus opticus invázió), szövettani prediktorokat (citomorfológia, extravaszkuláris mátrix mintázat, mitotikus aktivitás) és genetikai faktorokat. A látóideg inváziója ritka, az enukleációval kezelt uvea melanomás esetek 0,6-6,9%-ában írták le. A látóideg inváziót rossz prognózissal és magasabb melanomával kapcsolatos halálozással hozták összefüggésbe. A BAP1 egyike azon géneknek, amelyek mutációi a tumor fokozott epithelialis-mesenchymalis fenotípus változását eredményezik. Jól dokumentált, hogy a nagyobb méretű tumorok nagyobb valószínűséggel hordoznak BAP1 mutációkat, amely alátámasztja a prognosztikai következményeket. A BAP1 mutációk a tumorgenezis korai szakaszában és a kis uvea melanomákban is jelen lehetnek.

CÉLKITŰZÉS

A diagnosztikai módszerek és eszköztár napjainkban megfigyelhető intenzív fejlődése mellett az alkalmazott technológia mélyreható elméleti és tapasztalati úton szerzett ismerete elengedhetetlen a megfigyelt adatok megértésében és interpretálásában. A legfőbb kihívás a komplikációk időben történő detektálása, az elváltozások alapján történő rizikó besorolás és a kockázati faktorok kezelése a további morbiditás megelőzésére. Tanulmány-sorozatunk végső célja volt non-invazív képalkotó biomarkerek azonosítása a progresszív betegséglefolyás felismerésére és a korai beavatkozásra, a későbbi visszafordíthatatlan szemészeti, illetve szisztémás szövődmények megelőzése érdekében.

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1. Célunk ismert Sjögren-szindrómás betegekben a könny ozmolaritásának meghatározása és összevetése a hagyományos könnyfilm tesztekkel, valamint az eredmények összehasonlítása egészséges egyének hasonló értékeivel.
2. Szisztémás szklerózisban szenvedő páciensek esetén szemfelszíni vizsgálatokat és a cornea ultrastrukturális (sejtes és idegi) eltéréseit elemeztük egészséges kontrollokkal összehasonlítva.
3. Epizódikus migrénben szenvedő személyek könnyfilm rétegét, corneális sejtes és neurodegeneratív elváltozásainak vizsgálatát végeztük non-invazív klinikai módszerekkel.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

4. Különböző súlyosságú SARS-CoV-2 fertőzésen átesett személyek corneális sejtes és corneális és retinális neurodegeneratív elváltozásainak vizsgálatát végeztük non-invazív klinikai módszerekkel.

5. Diabétesz mellituszban szenvedő betegek esetén konfokális mikroszkópiával vizsgáltuk a különböző fokú idegrost morfológiai eltéréseket és OCTA során mikrovaszkuláris elváltozások tanulmányozását végeztük.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

6. Uvea melanomában szenvedő betegek mintáiban vizsgáltuk a nervus opticus inváziót, annak lehetséges mechanizmusát elemeztük és összefüggését más morfológiai rizikófaktorokkal.
7. A BAP1 expressziót tanulmányoztuk primer UM miatt enukleált bulbusokban metasztázissal és anélkül, valamint elemeztük a korrelációt a BAP1 immunreaktivitás és klinikopatológiai jellegzetességek között.
8. Nagy adatbázisok meta-analízise alapján az UM mutációs és metasztatikus rátáját számítottuk ki.
9. A matematikai modellezést és a korábban publikált számításokat használtuk arra a tumorméretre vonatkozóan, amelynél a mikrometasztázisok elszaporodása megkezdődik. Célunk volt, hogy becsléseket készítsünk a BAP1 mutáns tumorsejtklón eredetéről és dinamikus, időbeli fejlődéséről UM-ban. Végül soron a primer UM BAP1 expresszió elvesztési (mutáció keletkezése) idejének kalkulációját végeztük a tumor növekedését és kettőződését figyelembe véve.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgálati alanyok beválogatását és kivizsgálását a Debreceni Egyetem, az atlantai Emory Egyetem és a Pécsi Tudományegyetem Szemészeti Klinikáján végeztük a fent részletezett diagnosztikai modalitásokkal, prospektív és retrospektív módon. A felsorolt vizsgálatok módszertana az irodalomban leírtaknak megfelelt, a kutatási terv összeállítása a hatályos jogszabályoknak és a Helsinkai Deklarációban megfogalmazottaknak megfelelően történt. A betegek bevonása tájékozott beleegyezés után, a Regionális Kutatás Etikai Bizottságok engedélyével történt.

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1.1 Sjögren-szindróma

Az első tanulmányban 63 alany összesen 122 szemét vizsgáltuk a TearLab könnyozmolaritást mérő rendszerrel. Az alanyokat 3 csoportra osztottuk. Az 1. csoportba 21 nem-Sjögren szindrómás száraz szem (NSSDE) beteg (39 szem) tartozott, akiket a koppenhágai kritériumok szerint keratoconjunctivitis sicca-val diagnosztizáltunk. A 2. csoportba 20 beteg (39 szem) tartozott, akik Sjögren-szindrómában szenvedtek (SSDE) és akiket immunológiai vagy reumatológiai ambulanciákon diagnosztizáltak és kezeltek. Közülük 14 betegnek volt elsődleges Sjögren-szindrómája, 6 betegnek pedig másodlagos Sjögren-szindrómája. A 3. csoportba 22 egészséges, refraktív műtétre jelentkező személy (44 szem) tartozott, akiknek a kórtörténetében negatív volt a korábbi vagy jelenlegi szisztémás és szemészeti rendellenesség, kivéve a kisebb fénytörési hibákat ($< \pm 3,0$ D szférikus és cylinderes hiba). Az anamnézis felvétele és a látáóélesség rögzítése után minden alany esetében a könnyozmolaritását a TearLab készülékkel mértük, majd réslámpás vizsgálattal megfigyeltük a szemhéjjal párhuzamos kötőhártya-redőinek (LIPCOF) jelenlétét és fokát. A klasszikus koppenhágai tesztek egy után végeztük el.

1.2 Szisztémás szklerózis

Prospektív, keresztmetszeti, megfigyeléses, eset-kontroll vizsgálatunkba a mindenkori nemzetközi kritériumoknak megfelelően diagnosztizált SSc-betegeket vontunk be. A kontroll csoport tagjai rutin szemészeti vizsgálatra jelentkező, kisebb fénytörési hibával ($\pm 1,0$ dioptria) rendelkező alanyok közül kerültek ki. Minden résztvevőn átfogó szemészeti vizsgálatot végeztünk, beleértve a nem cikloplegiában vizsgált, szemüveggel legjobban korrigált látóélességet, a szemnyomás (IOP) mérését és a réslámpás vizsgálatot a szemhéjak, a kötőhártya elváltozásainak, a szaruhártya állapotának és a könnyfilmnek a megfigyelésére.

Az elülső szegmens vizsgálata forgó Scheimpflug-kamera (Pentacam HR, Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Németország) segítségével történt, szűk pupillával. A vizsgálathoz három megbízható mérés átlagát használtuk. A száraz szem betegség (DED) értékeléséhez a könny felszakadási időt, majd a Schirmer I. tesztet végeztük el a fentiekben ismertett módon. Minden betegnél és egészséges személynél IVCM-képzést végeztünk mindkét szem minden egyes szaruhártya-rétegről, beleértve a szubbazális idegplexust is, a Heidelberg Retina Tomograph III Rostock Cornea Module (HRT III RCM; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország) segítségével. Három jó minőségű felvételt választottunk ki a bazális hámról, a szubbazális idegplexusról, az elülső és hátsó stromáról és az endotelről. A szubbazális idegplexus három felvételét választottuk ki és elemeztük az ACCMetrics szoftver (University of Manchester, Manchester, Egyesült Királyság) segítségével. A szaruhártya idegrost-sűrűség (NFD), idegág-sűrűség (NBD), idegrost-hossz (NFL), idegrostok teljes elágazási sűrűsége (NTBD), idegrostterület (NFA) és idegrostszélesség (NFW) paramétereket számszerűsítettük.

1.3 Epizódikus migrén

Vizsgálatunkban minden alany megfelelt a Nemzetközi Fejfájás Társaság (3. kiadás) által meghatározott betegség kritériumoknak. Minden résztvevő strukturált neurológiai vizsgálaton esett át, meghatározták a migrén típusát, a dominánsan érintett oldalt, a betegség időtartamát és a rohamok gyakoriságát. A betegeket a betegség időtartama alapján 3 csoportra osztottuk (0-10 év, 11-20 év, >20 év). Hasonlóképpen 3 kategóriát határoztunk meg a havi rohamgyakoriság tekintetében (ritka: 0-5 roham/hó, átlagos: 6-10 roham/hó, nagyon gyakori: 11-15 roham/hó). Interiktális állapotban átfogó szemészeti vizsgálatot végeztünk, beleértve a látóélességet, a szemnyomásmérést, a réslámpás vizsgálatot szemfenékvizsgálattal, szaruhártya-tomográfiát (Anterior; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország), LacryDiag vizsgálatot (Quantel Medical, Franciaország) és in vivo konfokális mikroszkópiát (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország). A korábbi szaruhártya vagy intraokuláris műtéten átesetteket és kontaktlencse-viselőket kizártuk az elemzésből. Minden vizsgálati alanyon elvégeztük az összes szaruhártya réteg in vivo konfokális mikroszkópiáját a korábban leírtak szerint. A központi szaruhártya három különböző területén három jó minőségű pillanatfelvételt választottunk ki a szubbazális idegplexusról és ezeket az ACCMetrics V3 szoftverrel elemeztük. A korábban ismertett paramétereken kívül meghatároztuk a fraktáldimenziót (FD) is. A DC területének méréséhez az IVCN-képeken az ImageJ szoftvert (<http://imagej.nih.gov/ij/>; National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) használtuk. Számos könnyfilm-paramétert határoztunk meg a LacryDiag (Quantel Medical, Franciaország), nem invazív könnyfilm-képalkotó eszköz segítségével.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

2.1 COVID-19 betegség

A tanulmány sorozat első vizsgálatába 71 személyt vontunk be a Pécsi Tudományegyetem Szemészeti Klinikáján, 30 PCR-rel igazolt SARS-CoV-2 fertőzés után, valamint 41 korazonos egészséges személyt. A szemészeti vizsgálat magában foglalta a réslámpás vizsgálatot, az oftalmoszkópiát, az intraokuláris nyomás mérést és az IVCM-et a korábban leírtak szerint. Az epitel-, keratocita- és endotelsejt-sűrűségeket a korábban leírtaknak megfelelően műszeres, félautomata szoftverrel számoltuk ki. A központi szaruhártya-hámban lévő dendritikus sejteket szintén manuálisan jelöltük és a DC sűrűséget a műszer-alapú szoftver automatikusan kiszámította. A szaruhártya szubbazális idegplexusáról három jó minőségű képet választottunk ki és elemeztük az ACCMetrics szoftver 3. verziójával. Jelen tanulmányban az idegrostok egyéb morfológiai elváltozásait is rögzítettük, beleértve a mikroneuromákat, a tortuozitást, a szubbazális idegrostok diszkontinuitását és a gyöngyfűzészerű stromális idegek jelenlétét.

Második COVID-19 fertőzés hatását vizsgáló tanulmányunkba 63 személyt vontunk be prospektív módon a Pécsi Tudományegyetem Szemészeti Klinikájáról; 35 beteget PCR-rel bizonyított SARS-CoV-2 fertőzést követően, enyhe betegség megjelenésével, valamint 28, kornak és nemnek megfelelő kontroll személyt. A kutatási protokoll mindkét vizsgálati csoportban látóélességmérést, réslámpás vizsgálatot, szemnyomásmérést, valamint elülső és hátsó (midriázisban történő) szegmens képalkotást tartalmazott, elülső (Anterion; Heidelberg Engineering) és hátsó szegmens (Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT, Topcon) OCT-vel, OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkópiával (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module). SS-OCT és SS-OCT angiográfiás (Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT, Topcon) vizsgálatokat végeztünk a látóidegfő, a retina és a chorioidea strukturájának, valamint a látóhártya felszínes és mély kapilláris hálózatának non-invazív

leképzéséhez. A vaszkuláris denzitást (VD) automatizáltan, az IMAGENet szoftver segítségével határoztuk meg. A foveoláris avaszkuláris zóna (FAZ) körbe rajzolása manuálisan történt. Az átlagos retinális idegrostréteg (RNFL) vastagságot a látóidegfőre centrált, 3,4 mm sugarú körben a készülék beépített szoftvere segítségével határoztuk meg a 3D Disc felvételeken. A maculára centrált HD Raster felvételeken az automatikusan szegmentált vastagsági térkép felhasználásával a ganglionsejt-komplex, a centrális retina és a centrális chorioidea vastagságát értékeltük.

2.2 Diabétesz mellitusz

A diabétesz mellitusz szemészeti következményeit tanulmányozó keresztmetszeti vizsgálat 35 egészséges alany harmincöt szemét és 52 T1DM (10 beteg) és T2DM (42 beteg) páciens 52 szemét foglalta magában. Minden bevont személyen teljes szemészeti kivizsgálást végeztünk, beleértve a látóélességet, a szemnyomásmérést, a réslámpás vizsgálatot tágitott szemfenék vizsgálattal, szaruhártya-tomográfiát, IVCN, hátsó szegmens OCT és OCT angiográfia vizsgálatot. Ezen eljárások mindegyike a fentiekben részletesen ismertetett protokollok szerint történt.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

3.1 Uvea melanoma nervus opticus inváziója

Az Emory Szemészeti Központ L. F. Montgomery Szemészeti Patológiai Laboratóriumában primer chorioidea melanoma miatt enukleáción vagy exenteráción átesett betegek kórlapjait és szövettani preparátumait tekintettük át, akiknél a hisztopatológia a melanoma látóideg invázióját mutatta ki. A vizsgált klinikai-patológiai jellemzők közé tartozott az intraokuláris nyomás, a szemgolyó eltávolítást megelőző terápiás modalitás, a tumor elhelyezkedése, a legnagyobb bazális átmérő (LBD), a tumor vastagsága (prominencia),

a tumor szövettani sejt típusa, a sclera invázió, az extrasclerális extenzió a műtét idején, a Bruch-membrán áttörése, a nekrozis, a mitotikus aktivitás, az üvegtestbe való betörés vagy vérzés, az emisszáriák érintettsége, a vortex véna és a retina inváziója. Meghatároztuk a daganat növekedési mintázatát a látóideg inváziója szempontjából.

3.2 Uvea melanoma BAP1 immunreaktivitása

Negyven primer UM miatt enukleált beteg (22 férfi, 18 nő) mintáját elemeztük. Húsz beteg nem szenvedett metasztatikus betegségben a $77,45 \pm 42,26$ hónapos követés alatt. Húsz páciensnél áttétet detektálunk átlagosan $30,7 \pm 23,13$ hónappal az enukleációt követően. A formalin fixált, paraffinba ágyazott metszeteket standard szövettani festéseken kívül BAP1 immunhisztokémia (1:40 hígítás; Santa Cruz Biotechnology, USA) során Leica Bond-III automata rendszerrel (Leica Microsystems, Chicago, IL) piros kromogén alkalmazásával is vizsgáltuk, az immunreaktivitást mértük szemikvantitativén külön a sejtmagban és plazmában (200x nagyítás) egy négyfokú saját fejlesztésű skálán.

Az vizsgált klinikai-patológiai jellemzők a következők voltak: a beteg kora, neme, az enukleáció előtti kezelési modalitás, a legnagyobb bazális átmérő, a tumor vastagsága, a tumor szövettani sejt típusa, sclerális invázió, extrasclerális kiterjedés a műtét idején, a Bruch-membrán áttörés, vortex véna invázió, génexpressziós profil (Decision Dx-UM; Castle Biosciences Inc., Phoenix, AZ), TNM-stádium, áttét jelenléte vagy hiánya, valamint az áttétképződésig eltelt idő vagy az áttétmentes követési idő. A nukleáris és citoplazmatikus BAP1 festődést bináris változóként (alacsony/magas) elemeztük, az 1-es grádust használva határértékként (> 1 -es fokozatot magas BAP1 festődéscsoportnak, ≤ 1 -es grádust pedig alacsony BAP1 festődéscsoportnak tekintettük).

3.3 Uvea melanoma mutációs és metasztatikus rátája

A különböző tumorok metasztatikus és mutációs rátájának kiszámításához először is figyelembe kell vennünk a különböző méretű tumorokat. Feltételezve, hogy a tumoron belül minden egyes tumorsejtnek azonos a mutációs rátája, ki kell számolnunk a tumoron belüli sejtek számát. A különböző méretű tumorok metasztatikus rátájának kiszámításához két korábban publikált nagy adathalmazt használtunk. Shields és munkatársai milliméterenként különböző tumorvastagsági értékek mellett számították ki az uvea melanoma 5 éves metasztatikus rátáját. A Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26 beszámolt az 5 év múlva áttétben szenvedő uvea melanomás betegek becsült arányáról. E tanulmányok alapján az uvea melanomákat kis (LBD = 10 mm), közepes (LBD = 12 mm) és nagy (LBD = 16 mm) méretcsoportokba soroltuk, ahol az LBD a legnagyobb bazális átmérő; az LBD értékeit közöltük. A noduláris daganat alakját gömbsapkaként közelítve a daganat térfogata a következő:

$$V_T = \frac{\pi}{3} T^2 \left(\frac{3}{2} LBD - T \right),$$

ahol T a daganat vastagsága, amelyet korábban szintén megmértek. A daganatban lévő malignus sejtek száma ekkor $N_C = \frac{V_T}{V_C}$, ahol $V_C = \frac{4}{2} \pi r^3$ egy tipikus daganatsejt-térfogat. Az egy sejtre jutó effektív mutációs rátát ezután úgy definiáljuk, hogy az áttétképződési rátát elosztjuk az N_C sejtek teljes számával.

A Rotterdam Ocular Melanoma Study Group nagy adathalmazt bocsátott rendelkezésünkre uvea melanomás betegekből, a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációjának elemzésével. Tanulmányunk második részében ezen adatok alapján kiszámítottuk a különböző mutációs státuszú tumorok éves metasztatikus rátáját. Az éves metasztatikus arányt a teljes populációra vonatkozóan a kezelés utáni idővel, az egyes mutációkkal rendelkező betegek metasztatikus arányát pedig a kezelés utáni idővel szemben ábrázoltuk.

3.4 Uvea melanoma BAP1 mutáció kialakulásának ideje

A 177 bevont beteg 3 különböző kohorszból került ki. Az első kohorsz (n = 61) paraffinba ágyazott és formalinban fixált szemekből állt, amelyeket a Szent Erik Szemkórházban és az Emory Szemészeti Központban 1975 és 2017 között enukleáltak. Meghatározott kritériumok alapján kerültek be az elemzésbe. A második kohorsz (n = 76) a The Cancer Genome Atlas, a National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA gyűjtéséből származik. A harmadik, fentiekben már ismertetett kohorszt (n = 40) az Emory Eye Centerből gyűjtöttük össze az eredmények validálása céljából.

A tumor- és sejttérfogat becslése

A tumorok térfogatát félellipszoid alakot feltételezve becsültük meg:

$$A \text{ tumor térfogata} = \pi/6 \times T \times LBD^2$$

ahol t a tumor vastagsága és LBD a legnagyobb bazális átmérő.

A tumorsejtek térfogatának számításakor ferde ellipszoid alakot feltételeztünk:

$$A \text{ sejt térfogata} = 4/3 \times \pi \times ab^2$$

ahol a és b a sejt hosszú és rövid kalibrálója.

A daganatban lévő sejtek számának (x) eléréséhez szükséges sejtduplázódások számát a következőképpen számoltuk ki:

$$2^x = \text{tumorsejtek száma}$$

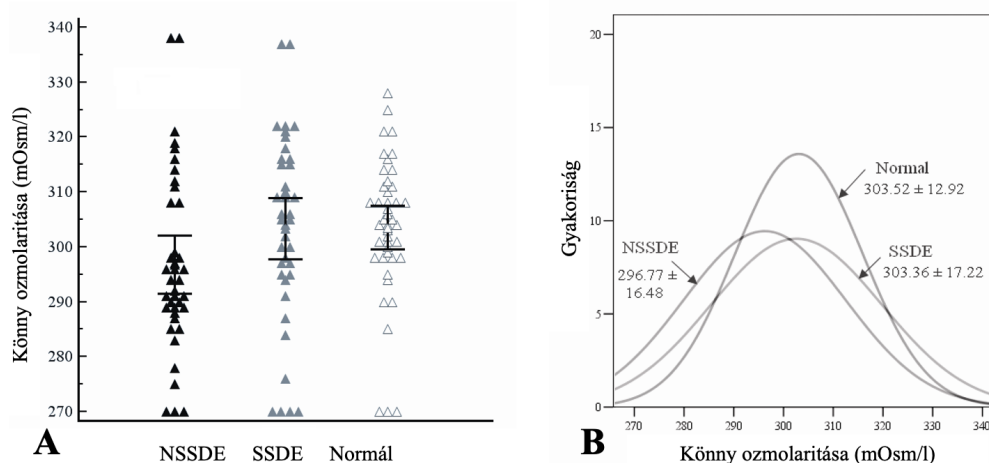
EREDMÉNYEK

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1.1 Sjögren-szindróma

Az 1. csoportba 21 NSSDE beteg 39 szeme tartozott (5 férfi és 16 nő, átlagéletkoruk: $59,4 \pm 15,57$ év, 26 és 81 év között), a 2. csoportba 20 SSDE beteg 39 szemét vontuk be (20 nő, átlagéletkoruk: $60,4 \pm 10,51$ év, 44 és 81 év között) és kontroll csoportként 22 egészséges személy 44 szeme szolgált (7 férfi és 15 nő, átlagéletkoruk: $34,48 \pm 12,95$ év, 18 és 56 év között). A Sjögren-szindróma átlagos időtartama $9,24 \pm 5,1$ év volt.

Az 1. csoportban (NSSDE) a könny ozmolaritását $296,77 \pm 16,48$ mOsm/l-nek mértük, amely szignifikánsan alacsonyabb volt a másik két csoporthoz képest ($P=0,018$, Kruskal-Wallis) (1. ábra). A könny hiperozmolaritás 6 NSSDE esetben (15%) volt kimutatható. A Schirmer-teszt értéke 16 esetben (41%) volt kóros. A Sjögren-csoporthoz hasonlóan 35 NSSDE esetekben (90%) megnövekedett könnyfilm felszakadási időt figyeltünk meg és mindkét száraz szem csoport BUT eredménye szignifikánsan különbözött az egészségesekétől ($P<0,0001$).



1. ábra. A TearLab rendszerrel mért könny ozmolaritás értékek (A) és a könny ozmolaritás mérések eloszlása (B) a nem-Sjögren-szindrómás száraz szeműeknél (NSSDE), a Sjögren-szindrómás száraz szeműeknél (SSDE), valamint egészséges egyéneknél.

A 2. csoportban (SSDE) az átlagos könnyozmolaritás $303,36 \pm 17,22$ mOsm/l volt, hiperozmolaritást 9 esetben (23%) figyelhetünk meg. A kötőhártya redőit 31 esetben (79,5%) találtuk kórosnak, abnormális Schirmer-értéket 18 esetben (46%) észleltünk, a BUT-érték pedig 35 esetben (az esetek 90%-a) 10 másodpercnél alacsonyabb volt. A szemfelszín fluoreszcein festődése 28 Sjögren-szindrómás esetben (72%) volt kóros, szignifikánsan nagyobb arányban, mint a másik két csoportban ($P < 0,0001$). Az 1. és a 2. csoport között csak a könny ozmolaritásában ($P = 0,03$, Mann-Whitney), a BUT ($P < 0,0001$) és az MGD ($P = 0,002$) tekintetében mutatkozott szignifikáns különbség.

A ROC-görbe elemzése alapján a TearLab Osmometerrel mért könnyozmolaritás nem tudott különbséget tenni az egészséges és a száraz szem között ($P = 0,127$). A LIPCOF, a Schirmer-teszt és a könnyfilm felszakadási ideje azonban optimális diagnosztikai képességűnek tűnt az egészséges és a száraz szemű betegek megkülönböztetésében ($P < 0,0001$) a ROC-görbe alatti terület (AUROC) alapján.

1.2 Szisztémás szklerózis

33 SSc-s beteg 65 szemét (5 férfi és 28 nő, átlagéletkor: $67,74 \pm 9,39$ év, 46 és 85 év között) és 30 korban illeszkedő egészséges személy 30 szemét (15 férfi és 15 nő, átlagéletkor: $64,55 \pm 9,48$ év, 46 és 85 év között) vontuk be a vizsgálatunkba ($P = 0,169$). A betegség átlagos fennállási ideje $15,21 \pm 8,04$ év volt (2 és 29 év között). A BUT 47 szemnél (72%) ≤ 5 másodperc volt, a Schirmer-érték 50 szemnél (77%) ≤ 10 mm, 40 szemnél (62%) pedig ≤ 5 mm. Az OSDI-pontszám 12 betegnél (36%) normális értéket mutatott, 3 betegnél (9%) enyhe, 2 betegnél (6%) mérsékelt, 16 betegnél (49%) pedig súlyos szemfelszín-károsodást jelzett.

Az egészséges alanyokhoz képest a bazális hámsejtek, a hátsó stromális keratociták és az endotelsejtek sűrűségét alacsonyabbnak mértük az SSc-s betegeknél, de a különbséget nem találtuk szignifikánsnak ($P = 0,156$, $P = 0,095$, $P = 0,391$). Az elülső stroma keratocita sűrűsége

szignifikánsan alacsonyabb volt az SSc-s betegeknél a kontrollokhöz képest ($P < 0,0001$). Hét SSc-s betegnél nem azonosítottunk keratocita sejtmagokat az elülső stromában és a legtöbb betegnél elszórta hiperreflektív pontszerű depozitumot figyeltünk meg az elülső stromában, csak néhány normális keratocita sejtmaggal. Három SSc-betegnél a hátsó stromában hiperreflektív anyag felhalmozódását mutattuk ki. Ezenkívül öt szisztémás szklerózis betegnél a Descemet-membrán/endotelium szintjében is hasonló pontszerű elváltozások voltak megfigyelhetők. Szignifikánsan károsodott szubbazális idegrost paramétereket észleltünk az SSc-s betegeknél az egészséges személyekhez képest. Szignifikáns korreláció volt az NFW ($r = 0,311$, $P = 0,009$) és inverz összefüggés az NBD ($r = -0,280$, $P = 0,019$) és az NFL ($r = -0,288$, $P = 0,016$) között a betegség időtartamával.

1.3 Epizódikus migrén

Vizsgálatunkba 44 migrénes beteg (7 férfi és 37 nő) 87 szemét vontuk be, (átlagéletkoruk: $33,23 \pm 11,41$ év, tartomány: 18-59 év), amelyet 25 egészséges önkéntes (6 férfi és 19 nő) 25 szemével hasonlítottuk össze (átlagéletkoruk $30,16 \pm 12,59$ év, tartomány: 22-79 év) ($P = 0,190$). Valamennyi beteg epizódikus migrénben szenvedett, a betegség átlagos időtartama $16,02 \pm 11,17$ év, a havi rohamgyakoriság pedig $4,37 \pm 0,86$ volt. A dominánsan érintett oldal 25 betegnél a jobb oldal, 8 betegnél a bal oldal volt, 11 betegnél pedig a betegség kétoldali érintettséget mutatott.

A szaruhártya szubbazális idegrostjait tekintve a migrénes csoportban a kontrollokhöz képest nem adódott szignifikáns különbség az NFD, NBD, NTBD és FD esetében ($P > 0,05$). Azonban a szaruhártya dendritikus sejt sűrűségének ($P < 0,0001$) és DC területének ($P < 0,0001$) szignifikáns növekedését találtuk a migrénes betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest (4. ábra). Továbbá a DC sűrűség pozitív korrelációt mutatott a havi rohamgyakorisággal ($r = 0,307$, $P = 0,005$), a DC terület pedig inverz korrelációt mutatott az NBD-vel ($r = -0,233$, $P = 0,039$), az NFL-lel ($r = -0,232$, $P = 0,040$) és a NTBD-vel ($r = -0,233$, $P = 0,039$).

A könnyfilm paramétereit LacryDiaggal elemezve a Meibom-mirigyek területének szignifikánsan nagyobb veszteségét mutattuk ki a felső szemhéjon ($P=0,005$) a migrénes betegeknél. A többi vizsgált könnyfilm-paraméterben (LTMH, INT, NIBUT) nem találtunk szignifikáns különbséget a migrénes betegeknél. A betegség időtartamára vonatkozó alcsoport-elemzésünkben az ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a dendritikus sejtek sűrűségében ($P<0,001$) és a dendritikus sejtek területében ($P<0,001$).

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

2.1 COVID-19 betegség

Harminc SARS-CoV-2 fertőzést követő beteg (16 férfi és 14 nő, átlagéletkor: $41,8 \pm 13,63$ év, 21-66 év között) 30 szemét és 41 egészséges önkéntes (22 férfi és 19 nő, átlagéletkor: $47,98 \pm 19,28$ év, 19-74 év között) 41 szemét vizsgáltuk, a két csoport között sem az életkor ($P=0,140$), sem a nem ($P=0,979$) tekintetében nem állt fent szignifikáns különbség. A PCR-rel igazolt diagnózis és a szemészeti vizsgálat közötti átlagos idő $13,93 \pm 6,13$ hét volt (3 és 26 hét között). A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a hámsejtek ($P=0,091$), az endotelsejtek ($P=0,519$) és az elülső stromális keratociták sűrűségében ($P=0,693$). A hátsó stromális keratociták sűrűsége szignifikánsan alacsonyabb volt a SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeknél ($P=0,0006$). A centrális szaruhártya dendritikus sejtsűrűségét szignifikánsan magasabbnak mértük SARS-CoV-2 fertőzést követően ($P=0,0004$). A dendritikus sejtek területe szignifikánsan különbözött a két csoport között ($P<0,0001$). A SARS-CoV-2 fertőzést követően hiperreflektív, kerek, dendrit nélküli gyulladásosejteket is azonosítottunk.

A SARS-CoV-2 fertőzést követően a betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest szignifikánsan megváltozott szubbazális idegrost morfológiát észleltünk minden paraméter tekintetében, kivéve az idegrostok szélességét, amely nem különbözött szignifikánsan a két

csoport között ($P=0,116$). A SARS-CoV-2 fertőzést követően 6 betegnél mutattunk ki szubbazális és stromális mikroneuromákat. Az IVCN-en megfigyelt egyéb elváltozások közé tartozott a szubbazális idegek fokozott tortuozitása, az idegrostok megszakíttottsága és a stromalis idegek gyöngyfűzészerű átalakulása.

A második koronavírus fertőzés szemészeti hatását vizsgáló tanulmányunkban 35 COVID-19 fertőzésen átesett beteg (18 férfi és 17 nő, átlagéletkor: $43,3 \pm 13,8$ év, 21-67 év között) 35 szemét és 28 egészséges személy (11 férfi és 17 nő, átlagéletkor: $46,7 \pm 17,6$ év, 20-67 év között) 28 szemét vizsgáltuk, a két csoport között nem találtunk szignifikáns különbséget az életkor ($P=0,388$) és a nem ($P=0,345$) tekintetében. Az első pozitív PCR-teszt és a szemészeti vizsgálat közötti átlagos idő $13,5 \pm 6,1$ hét volt (2 és 26 hét között).

A centrális chorioidea vastagsága nagyobb értéket mutatott a normál csoportban, de a két csoport között nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget ($P=0,101$). A temporális SCP VD szignifikánsan különbözött a két csoport között ($P=0,019$). Más SCP és DCP VD paraméterben nem állapítottunk meg szignifikáns eltérést a két csoport között (1. táblázat). Az RNFL vastagsága magasabb értéket mutatott a normál alanyokban, de az RNFL-GCL komplex paraméterek egyike sem jelzett szignifikáns különbséget a normál és a COVID fertőzésen átesett személyek között (1. táblázat).

1. táblázat. OCT és OCTA paraméterek összehasonlítása egészséges egyéneknél és SARS-CoV-2 fertőzöten átesetteknél.

	Egészséges egyének [§]	SARS-CoV-2 infekción átesettek [§]	P*
<i>Centrális chorioidea vastagság (μm)</i>	304,769±81,420 (271,883 – 337,656)	269,941±79,458 (242,217 – 297,665)	0,101
<i>VD az SCP centrumában (%)</i>	21,363±5,248 (19,328 – 23,398)	22,931±5,137 (21,139 – 24,723)	0,241
<i>VD az SCP felső kvadránsában (%)</i>	51,32±2,357 (50,406 – 52,234)	50,546±3,010 (49,496 – 51,596)	0,272
<i>VD az SCP temporális kvadránsában (%)</i>	48,526±2,666 (47,492 – 49,560)	47,166±1,761 (46,551 – 47,780)	0,019
<i>VD az SCP alsó kvadránsában (%)</i>	50,916±3,312 (49,632 – 52,201)	50,714±2,649 (49,775 – 51,654)	0,792
<i>VD az SCP nazális kvadránsában (%)</i>	47,154±2,899 (46,030 – 48,278)	46,254±1,974 (45,565 – 46,943)	0,153
<i>FAZ területe az SCP-ben (μm²)</i>	267,907±83,553 (234,854 – 300,959)	252,822±199,750 (210,361–295,284)	0,582
<i>VD a DCP centrumában (%)</i>	19,065±3,688 (17,575 – 20,555)	18,764±5,437 (16,836 – 20,691)	0,810
<i>VD a DCP felső kvadránsában (%)</i>	52,071±3,682 (50,644 – 53,499)	53,006±3,688 (51,719 – 54,293)	0,324
<i>VD a DCP temporális kvadránsában (%)</i>	47,941±3,768 (46,480 – 49,403)	47,115±2,420 (46,271 – 47,959)	0,300
<i>VD a DCP alsó kvadránsában (%)</i>	68,755±88,656 (34,377 – 103,132)	52,943±3,253 (51,808 – 54,078)	0,444
<i>VD a DCP nazális kvadránsában (%)</i>	48,594±3,096 (47,393 – 49,794)	47,776±3,815 (46,445 – 49,107)	0,365
<i>GCL+ a centrumban (μm)</i>	52,481±8,116 (49,271 – 55,692)	61,353±25,830 (52,340 – 70,366)	0,091
<i>RNFL vastagság (μm)</i>	108,269±10,850 (103,887 – 112,652)	103,235±12,524 (98,865 – 107,605)	0,108

VD= vaszkuláris denzitás; SCP= szuperficiális kapilláris hálózat; DCP=mély kapilláris hálózat; FAZ=foveoláris avaszkuláris zóna; GCL=ganglionsejt-réteg; RNFL=retinális idegrost réteg, centrum: a centrális 1 mm-ben mért vastagság; belső gyűrű: a centrális 3 mm-ben mért vastagság; külső gyűrű: a centrális 6 mm-ben mért vastagság, §Átlag± standard deviáció (95% konfidencia intervallum), * Független t-próba

2.2 Diabétesz mellitusz

Tanulmányunkban az egészséges önkéntesek és a cukorbetegség átlagéletkora 49,88 ± 17,01 év (20 és 73 év között), illetve 56,04 ± 13,66 év (22 és 78 év között) volt (P=0,155). A diabéteszes csoportban a betegség átlagos fennállási ideje 11,17 ± 11,73 év volt (1 hónap és 52 év között). Az átlagos HbA1c 7,28% ± 1,33% értéket mutatott (5,5% és 13% között). T1DM-et 10 betegnél diagnosztizáltunk, T2DM-et pedig 42 betegnél találtunk. Egyetlen beteg sem szenvedett közepes vagy súlyos nem proliferatív vagy proliferatív diabéteszes retinopátiában.

A diabétesz mellituszban szenvedő betegeknel a szaruhártya szubbazális idegrostjainak valamennyi paramétere csökkent az egészséges személyekhez képest és a különbség minden eredmény esetében szignifikáns volt, kivéve az NFW-t ($P=0,586$). Egyik idegrost morfológiai paraméter és a betegség időtartama vagy a HbA1C között sem mutatkozott statisztikailag szignifikáns összefüggés. Az érsűrűség az SCP-ben szignifikánsan csökkent a felső ($P<0,0001$), a temporális ($P=0,001$) és a nazális kvadránsban ($P=0,003$) a diabéteszes csoportban. A DCP-ben csak a superior VD ($P=0,036$) csökkent szignifikánsan a cukorbeteg csoportban. A GCL a belső gyűrűben szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott a diabéteszes betegeknel ($P<0,0001$). Szignifikáns inverz korrelációt figyeltünk meg a betegség időtartama és az SCP érsűrűsége között a felső ($r = -0,539$, $P<0,0001$), temporális ($r = -0,557$, $P<0,0001$), inferior ($r = -0,433$, $P=0,005$) és a nazális kvadránsban ($r = -0,372$, $P=0,015$), valamint a betegség időtartama és a DCP érsűrűsége között az alsó ($r = -0,369$, $P=0,019$) és a nazális kvadránsban ($r = -0,458$, $P=0,003$).

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációk és metasztázisok rátája

3.1 Uvea melanoma nervus opticus inváziója

Huszonegy (13 férfi, 8 nő), érhártyából kiinduló primer uvea melanomában szenvedő, enukleáción (20 esetben) vagy exenteráción (1 esetben) átesett beteget vontunk be a vizsgálatba, akik szövettani vizsgálata során a daganat látóideg inváziója volt megfigyelhető. Az átlagéletkoruk $65,67 \pm 14,72$ év volt (39 és 90 év között). A szövettani sejttípus vegyesnek mutatkozott 76%-ban, epithelioidnak 14%-ban és orsósejtesnek 10%-ban. Az átlagos legnagyobb tumor átmérő $14,04 \pm 7,11$ mm és a tumor átlagos vastagsága $8,18 \pm 5,00$ mm volt. A peripapilláris lokalizációt 86%-ban találtunk, a sugártest az esetek 19%-ában volt érintett és 1 esetben diffúz daganatnövekedést dokumentáltunk.

A látóideg invázió négy típusát azonosítottuk, amint azt a 2. táblázat szemlélteti. Transzvitreális inváziót 10%-ban, retinális inváziót 23%-ban, direkt peripapilláris inváziót

57%-ban és kombinált mechanizmust 10%-ban észleltünk. Sclerális invázió 91%-ban, emisszária invázió 33%-ban és extrasclerális terjedés a minták 29%-ában volt jelen. Az esetek 57%-ában közvetlen peripapilláris látóideg-inváziót figyeltünk meg. 43%-ban más mechanizmusok játszottak szerepet, beleértve a transzvitreális terjedést és/vagy a retina inváziót. A látóideg invázió 75%-ban és 56%-ban prelamináris, 8%-ban és 11%-ban lamináris, 17%-ban és 33%-ban retrolamináris volt a peripapilláris és a transzvitreális/retinális inváziós csoportokban.

2. táblázat. A primer chorioidea melanoma látóideg inváziójának mechanizmusai.

I. Transzvitreális invázió
A. Élő melanoma sejtek szóródása az üvegtesti térbe B. Malignus sejtek extravazációja a szomszédos retinális erekből az üvegtestbe vagy melanoma sejtek migrációja üvegtesti vérzéssel
II. Retinális invázió
A. Neuroretinális tumor terjedés a Bruch-membrán áttörése során B. A malignus sejtek a retina belső felszínén terjednek
III. Peripapilláris invázió
A. Tumor terjedés a Bruch-membrán vége és az Elschnig-határhártya között B. A tumor extenziója az Elschnig-határhártyán keresztül
IV. Kombinált mechanizmus

3.2 Uvea melanoma BAP1 immunreaktivitása

Az elemzésbe negyven, enukleáción átesett primer uvea melanomában szenvedő beteget (22 férfi, 18 nő) vontunk be. A betegek átlagéletkora $57,98 \pm 14,75$ év volt (24 és 86 év között). Húsz betegnél nem találtunk metasztatikus betegséget a $77,45 \pm 42,26$ hónapos átlagos követési idő alatt (A csoport). Húsz betegnél átlagosan $30,7 \pm 23,13$ hónappal az enukleáció műtét után alakult ki áttét (B csoport). Az A csoportú betegeknél a szövettani sejtípus 95%-ban (19/20) vegyes és 5%-ban (1/20) epithelioid volt, a B csoportban 80%-ban (16/20) vegyes sejtípus, 20%-ban (4/20) epithelioid ($P=0,191$). A B csoportban szignifikánsan magasabb átlagos LBD-t ($P=0,006$) és átlagos tumorvastagságot ($P=0,005$) figyeltünk meg. Az

A csoportban a nukleáris BAP1 festődés 10%-ban (2/20) alacsony (0-1. grádus) és 90%-ban (18/20) magas (2-3. grádus) volt. A B csoportban 70%-ban (14/20) alacsony nukleáris BAP1 immunreaktivitást, 30%-ban (6/20) pedig magas nukleáris BAP1 festődést észleltünk. A metasztázis nélküli betegek egyikénél sem, a metasztázisos betegek 45%-ánál (9/20) pedig nem tudtunk kimutatni nukleáris BAP1 expressziót. Magas citoplazmatikus BAP1 festődést detektáltunk az áttét nélküli betegek 100%-ánál (20/20). Az áttétes betegeknél 35%-ban (7/20) alacsony citoplazmatikus BAP1 immunreaktivitást, 65%-ban (13/20) pedig magas citoplazmatikus BAP1 festődést észleltünk. A B csoportban szignifikánsan alacsonyabb nukleáris BAP1 immunreaktivitási pontszámot találtunk ($P=0,025$). A citoplazmatikus BAP1 festődésben nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a két csoport között ($P=0,092$).

A kétváltozós logisztikus regressziós elemzés megerősítette, hogy a nagyobb tumorvastagság, a nagyobb bazális átmérő és az előrehaladottabb TNM-stádium szignifikánsan növelte a metasztatikus betegség kialakulásának esélyét. Emellett kimutatta, hogy a magasabb nukleáris BAP1 expresszió csökkentette az áttét kialakulásának esélyét. A többváltozós logisztikus regressziós modell azt eredményezte, hogy a nukleáris BAP1 festődés volt az áttétes betegség egyetlen szignifikáns független előrejelzője ($P=0,042$) (3. táblázat). A magas nukleáris BAP1 festődéssel rendelkező betegeknél hosszabb áttétmentes túlélést figyeltünk meg, mint az alacsony BAP1 festődéssel rendelkezőknél ($P=0,004$). Az áttétképződésig eltelt becsült átlagos idő $39,06 \pm 7,41$ hónap volt az alacsony nukleáris BAP1 festődés esetén és $138,12 \pm 16,22$ hónap a magas nukleáris BAP1 festődés esetén.

3. táblázat. Az áttétképződési kockázatot értékelő többváltozós logisztikus regressziós modell.

		Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	P érték
<i>Legnagyobb alap</i>		1,090 (0,833, 1,426)	0,531
<i>Prominencia</i>		1,222 (0,932, 1,603)	0,147
<i>Magi BAP1 festődés</i>	<i>Alacsony</i>	Referencia csoport	0,042
	<i>Magas</i>	0,194 (0,040, 0,942)	

3.3 Uvea melanoma mutációs és metasztatikus rátája

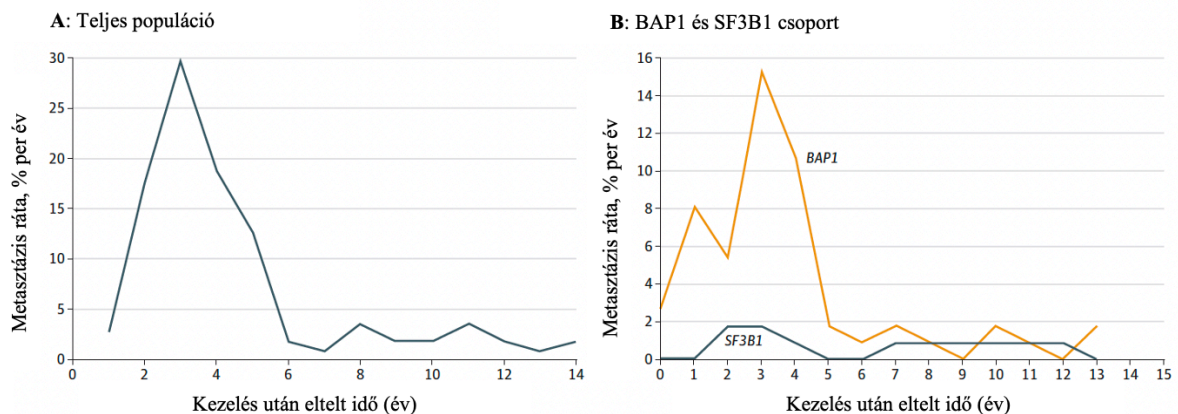
A Shields és munkatársai által közzétett 5 éves metasztázis rátára vonatkozó adatok alapján az algoritmusunkkal $1,09 \times 10^{-8}$ és $7,86 \times 10^{-7}$ közötti mutációs rátákat kalkuláltunk sejtszótódásokonként, amint azt a 4. táblázat mutatja. A kisebb vastagságú tumorok esetében lényegesen magasabb mutációs rátát találtunk. A COMS Group által közzétett 5 éves áttétképződési arányt használva, a kis méretű melanomák esetében $6,02 \times 10^{-8}$, a közepes méretűek esetében $2,13 \times 10^{-8}$, a nagy méretűek esetében pedig $1,54 \times 10^{-8}$ mutációs rátát figyeltünk meg az LBD-értékek alapján.

4. táblázat. A különböző méretű (prominencia) uvea melanomák számított mutációs aránya a Shields és munkatársai által közzétett 5 éves áttétképződési arány alapján.

Prominencia (mm)	Sejtek száma a tumortömegben	5 éves metasztázis ráta	Mutációs ráta
0-1,0	$7,25 \times 10^6$	5,7%	$7,86 \times 10^{-7}$
1,1-2,0	$6,07 \times 10^7$	7,9%	$1,30 \times 10^{-7}$
2,1-3,0	$1,56 \times 10^8$	4,6%	$2,94 \times 10^{-8}$
3,1-4,0	$2,82 \times 10^8$	8,1%	$2,87 \times 10^{-8}$
4,1-5,0	$4,25 \times 10^8$	15,2%	$3,57 \times 10^{-8}$
5,1-6,0	$5,75 \times 10^8$	17,3%	$3,01 \times 10^{-8}$
6,1-7,0	$9,72 \times 10^8$	15,2%	$1,56 \times 10^{-8}$
7,1-8,0	$1,18 \times 10^9$	21,3%	$1,80 \times 10^{-8}$
8,1-9,0	$1,37 \times 10^9$	31,1%	$2,27 \times 10^{-8}$
9,1-10,0	$2,62 \times 10^9$	30,7%	$1,17 \times 10^{-8}$
>10,0	$3,46 \times 10^9$	40,2%	$1,16 \times 10^{-8}$

A Rotterdam Ocular Melanoma Study Group a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációs státuszát vizsgálta uvea melanomában és ezt összehasonlította a túléléssel. A teljes vizsgálati populáció esetében az áttétek előfordulási maximuma 3 évvel a primer uvea melanoma kezelése után következett be és két kisebb csúcspont 7 és 11 évvel később (2. A ábra). Az alcsoport-elemzésbe azok a betegek kerültek be, akiknél a kezelést követően diagnosztizáltak metasztázist. A végső analízisbe 114 metasztatikus uvea melanomás beteget vontunk be.

Kilencvenegy beteg BAP1 mutációt, 31 GNAQ-mutációt, 31 GNA11-mutációt, 2 EIF1AX-mutációt és 12 SF3B1-mutációt hordozott. Két metasztatikus uvea melanomával és mutálódott EIF1AX-szal rendelkező beteget kizártunk, mivel ők BAP1 mutációt hordoztak. Miután a különböző mutációk esetében az éves metasztatikus rátát a kezelés utáni idő függvényében ábrázoltuk, a BAP1 mutációk esetében a kezelés után 1 évvel kis csúcsot, 3,5 évvel pedig nagy csúcsot figyeltünk meg a metasztázis képződésben, az SF3B1-mutációk esetében pedig egy korai csúcsot 2 és 3 év között és egy késői csúcsot 7 évnél (2. B ábra). Az EIF1AX-mutációkat hordozó tumorban szenvedő betegeknél nem találtunk áttétet.



2. ábra. (A) Az ábra az éves metasztázisrátát mutatja a kezelés utáni idő függvényében a teljes populációra vonatkozóan. **(B)** Az ábra az éves metasztázis arányt mutatja a kezelés utáni idő függvényében a metasztázissal rendelkező 2 mutáns csoport esetében.

3.4 Uvea melanoma BAP1 mutáció kialakulásának ideje

A negyedik vizsgálatba összesen 177 primer uvea melanoma miatt enukleáción átesett beteget vontunk be. A betegek átlagos életkora az enukleációkor 61 ± 15 év volt. A tumor átlagos térfogatát $913 \pm 865 \text{ mm}^3$ -nek mértük, a nagyság és a BAP1 expresszió alapján mért sejtek átlagos számát minden egyes tumorban $208\,403 \pm 165\,587$ -nek kalkuláltuk. Nyolcvanhat beteg a követés vége előtt elhunyt. A 91 túlélő medián követési ideje 46 ± 78 hónap volt.

A 76 szekvenált tumorból 26-ban (34%) találtunk BAP1 mutációt. A BAP1 mutációval rendelkező tumorok átlagos térfogata szignifikánsan nagyobb volt, mint a vad típusúaké (2109 vs. 1552 mm³, P=0,025). Hasonlóképpen, a BAP1 expresszióját elvesztő tumorsejtek átlagos térfogata szignifikánsan nagyobb volt (2657 ± 1283 μm³), mint azoké, amelyek expressziója megmaradt (1593 ± 602 μm³, P=0,027). Az összes tumorsejt átlagos térfogata a BAP1 expressziótól függetlenül 2105 ± 936 μm³ volt. A tumorsejtek átlagos száma tumoronként 433 941 547 ± 410 738 729 volt, amit úgy számoltunk ki, hogy az egyes tumorok térfogatát elosztottuk a 2105 μm³ átlagos tumorsejt-térfogattal. A BAP1 expresszió-vesztéssel rendelkező tumorsejtek átlagos száma 251 520 892 ± 368 488 894 volt. A daganatsejtek számának és a BAP1 vesztéssel rendelkező daganatsejtek számának eléréséhez szükséges sejtosztódások átlagos száma 27,9 ± 1,7, illetve 25,8 ± 3,2. A 2,1 daganat duplázódásnyi különbség azt jelzi, hogy a mutáció akkor következett be, amikor az elváltozás csak 4 rosszindulatú sejtből állt.

Összefoglalva, egy 11,1 mm átmérőjű és 5,5 mm vastagságú tumor, amely a diagnózis felállításakor az átlagos UM méretet jelenti, 9,5-38,2 évvel a diagnózis felállítása előtt indult progressziónak és az első olyan sejtje, amelynek elveszett a BAP1 expressziója, 0,5-4,6 éves korában jelent meg, attól függően, hogy az átlagos tumorban a BAP1 expressziót elvesztő tumorsejtek arányát és a mitózisok között eltelt átlagos időt miként becsüljük.

MEGBESZÉLÉS

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1.1 Sjögren-szindróma

A könny ozmolaritás mérését régóta a száraz szem diagnózisának arany standardjának tekintik. Újabban a könny ozmolaritását tartják a száraz szem szindróma legjobb egyedi előrejelzőjének. A száraz szem szindrómában az emelkedett könny ozmolaritásnak feltételezhetően jelentős szerepe van a szemfelszíni gyulladásban és a szaruhártya hámjának károsodásában. Jelen tanulmányban a Sjögren-szindrómás száraz szem esetében a könny ozmolaritása szignifikánsan magasabb volt a nem Sjögren-szindrómás csoporthoz képest, de az egészséges és a száraz szemű alanyok között nem állapítottunk meg szignifikáns különbséget az ozmolaritás mérésekben. A könny ozmolaritás statisztikailag szignifikáns különbségét az NSSDE és az SSDE betegek között valószínűleg a betegség súlyosságának különbségeivel lehet magyarázni. Vizsgálatunkban a TearLab rendszerrel mért könny ozmolaritás nem tudott különbséget tenni az egészséges és a száraz szeműek között ($P=0,127$). Vizsgálatunkban szignifikáns eltérést figyeltünk meg a könny ozmolaritás ($P=0,03$), a könnyfilm felszakadási idő ($P<0,0001$) és az MGD eredmények ($P=0,002$) tekintetében a nem Sjögren-szindrómás és a Sjögren-szindrómás száraz szemek között.

Összefoglalva, jelentős átfedést figyeltünk meg a kontroll és száraz szemű csoportjaink könnyozmolaritási értékei között. Fontos hangsúlyoznunk, hogy a TearLab rendszer a könnymeniszkusz ozmolaritás viszonyairól ad tájékoztatást, s eredményéből a könnyfilm valódi ozmolaritására csupán csak következtetni tudunk. Ezért a készülék mérései önmagukban nem, csak a száraz szem hagyományos diagnosztikus tesztjeivel együtt értékelhetők. Mivel azonban a tünetek kialakulásában és a klinikai jelek progressziójában központi szerepe van a hyperozmolaritásnak, a teszt már a korai fázisban felhívhatja a figyelmet a száraz szem betegség lehetőségére és hasznos lehet az optimális műkönnypótlás dozírozásában.

1.2 Szisztémás szklerózis

Az SSc egy komplex kötőszöveti rendellenesség, amely megváltozott veleszületett és adaptív immunválaszokkal jár, amely túlzott kollagén és extracelluláris mátrix felhalmozódáshoz vezet a különböző szervekben. Legjobb tudomásunk szerint a szaruhártya szerkezetének anomáliáját SSc-ben először Cockburn írta le 1984-ben, aki a Bowman-membrán alatt és az elülső stromában jelentkező pontszerű opacitásokról számolt be. Tanulmányunk SSc betegcsoportjában 7 egyénnél egyáltalán nem találtunk normális keratocita sejtmagokat az elülső stromában, azonban aktivált keratocitákat és felhalmozódott hiperreflektív pontszerű anyagot figyeltünk meg a felszínes stromában. Öt SSc-betegnél hasonló elváltozásokat észleltünk a Descemet-endotelium szintjében. Az SSc-s betegeknek az egészséges alanyokhoz képest kissé alacsonyabb centrális szaruhártya pachymetria értékeket észleltünk. Ez a megállapítás összhangban van korábbi publikációkkal. SSc-s betegeinknél nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a hám- és endotélsejtek sűrűségében, de az elülső stroma keratocitáinak száma szignifikánsan alacsonyabb volt, amikor egészséges alanyokkal hasonlítottuk össze. A szaruhártya morfológiájának fent említett változásai nem korreláltak az SSc időtartamával, csak néhány idegrostmorfológiai paraméter mutatott szignifikáns összefüggést a betegség időtartamával.

A szárazszem-tesztek és az OSDI-pontszám alapján a vizsgálatunkban szereplő SSc-betegek enyhe vagy súlyos szemfelszíni betegségben szenvedtek. Tanulmányunk során számszerűsítettük szisztémás szklerózisban a szubbazális idegek morfológiai elváltozásait. Az SSc-csoportunkban az idegrostok jelentős károsodását észleltük. Ez összhangban van más tanulmányokkal, amelyek a perifériás neuropátia gyakori fennállásáról számoltak be szisztémás szklerózisban szenvedő betegeknek. Eredményeink hangsúlyozzák az IVCM szerepét az SSc-betegek neuropátiájának rutinszerű szűrésében, amely csökkentheti ezen betegek további morbiditását.

1.3 Epizódikus migrén

A trigeminális ideg alapvető szerepet játszik a szemfelszíni egység funkciójának fenntartásában. Többek között a szaruhártya és a kötőhártya szenzoros innervációját biztosítja. A szemfelszín funkcionális egységeinek minden összetevője kapcsolatban áll egymással és együttműködik a szemfelszín egészségének és működésének fenntartása érdekében.² Bármelyik komponens károsodása vagy működési zavara szemfelszíni betegséghez vezethet, beleértve a száraz szem szindrómát is. Tanulmányunkban a kontrollokhoz képest a DC sűrűség a migrénes betegeknél több mint háromszoros volt. Emellett szignifikánsan emelkedett DC területet találtunk, amely e sejtek aktiválódására utal. Vizsgálatunkban epizódikus migrénben csökkent idegrostsűrűséget, elágazódás sűrűséget, teljes elágazódás sűrűséget és fraktáldimenziót figyeltünk meg; a különbség azonban nem volt szignifikáns a migrénes és az egészséges csoport között. A trigeminális ideg ophthalmicus ágának károsodása a szaruhártya érzékenységének és a könnytermelés csökkenéséhez vezethet, ami száraz szem szindrómát és más szemfelszíni rendellenességeket eredményezhet. A vizsgálatunkban használt átfogó könnyfilm-képalkotó eszköz a Meibom-mirigyek területének szignifikánsan nagyobb mértékű csökkenését mutatta ki a felső szemhéjban az epizódikus migrénes betegeknél.

Összefoglalva, eredményeink arra utalnak, hogy a migrénes betegek szaruhártyájában a perifériás trigeminalis rendszert érintő neuroinflammáció van jelen. A szubbazális plexust körülvevő dendritikus sejtek részt vehetnek a fájdalom aktiválásában és modulációjában migrénben. Legjobb tudomásunk szerint ez a legnagyobb, a szemfelszíni funkcionális egységet vizsgáló, epizódikus migrénes betegekből álló kohorsz. A perifériás idegrendszerben a végbemenő változások időben történő felismerése elengedhetetlen a migrén patogenezisének megértéséhez és a jövőbeli terápiás célpontok megtalálásához.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

2.1 COVID-19 betegség

Vizsgálatunkban enyhe COVID-19 után szignifikánsan magasabb DC sűrűséget találtunk a betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest. Szignifikánsan nagyobb dendritikus sejtterületet figyeltünk meg SARS-CoV-2 fertőzést követően is. A SARS-CoV-2 után a betegeknél háromszor akkora DC sűrűséget figyeltünk meg. A SARS-CoV-2 fertőzést követő betegeknél a szubbazális idegplexusban és a stromális idegekben mikroneuromákat azonosítottunk. A mikroneuromák az idegkárosodás következményei és az ideggeneráció jelei lehetnek. Az emberi szaruhártyában szubbazális és stromális mikroneuromákról számoltak be különböző állapotokban. A COVID-19 után kialakuló szaruhártya mikroneuromák olyan gyulladáshoz és immunmediált folyamatoknak tulajdoníthatók, amelyek idegkárosodást okozhattak. A SARS-CoV-2 fertőzést követő egyéb idegrost-morfológiai elváltozások közé tartozott a fokozott tortuozitás, a megszakítottság és a gyöngyfüzér szerű lefűződés. A megbetegedés után a szubbazális idegrostok jelentős csökkenése és megváltozott morfológiája is megfigyelhető volt, ami idegkárosodásra és regenerációra utal. Az ebben a vizsgálatban kimutatott corneális sejtes és ultrastrukturális változások a COVID-19 betegség neuroinflammatorikus következményeire utalnak a szaruhártyában, szemészeti elváltozások hiányában.

A retina neurodegenerációját szintén vizsgáltuk a betegséget követően. Az RNFL vastagsága nem mutatott szignifikáns különbséget az egészséges és a COVID utáni alanyok között. Általánosságban nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget az érsűrűségben sem az SCP-ben, sem a DCP-ben az egészséges csoporthoz képest. Csak a temporális SCP VD-a csökkent szignifikánsan a betegeknél a COVID-19 után.

Vizsgálatunkban a PCR-rel igazolt enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzésben szenvedő betegeknél in vivo konfokális mikroszkópiával különböző mértékű szaruhártya

szubbazális idegrost morfológiai elváltozásokat lehetett kimutatni. OCT-angiográfiával nem észleltünk releváns mikrovaszkuláris változásokat és a strukturális GCL-RNFL-komplex paraméterei nem mutatták a látóidegbetegség jeleit a COVID utáni betegeknél. Eredményeink arra utalnak, hogy a perifériás neurodegeneratív változások még enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzést követően is előfordulhatnak. Az in vivo konfokális mikroszkópia fontos eszköznél tűnik a COVID-19 utáni perifériás neuropátia monitorozásában a betegeknél.

2.2 Diabétesz mellitusz

Tanulmányunkban diabéteszes retinopátiában nem szenvedő cukorbetegéknél vizsgáltuk OCT angiográfia és in vivo konfokális mikroszkópia során, hogy a retinális mikrovaszkuláris vagy a corneális neurodegeneratív elváltozások detektálhatók korábban. Megváltozott szubbazális idegrostmorfológiát találtunk DM-es betegeknél még retinopátia hiányában is. A teljes NFA hasonló volt a kontrollszemélyek és a cukorbetegek között, feltehetően a fő idegrostok korai relatív megőrzése miatt, az idegágak elsődleges csökkenése mellett. A jelen vizsgálatban az NFW nem különbözött szignifikánsan a cukorbeteg és az egészséges személyek között, ami alátámasztja korábbi magyarázatunkat a disztális idegágak korai, kifejezettebb elvesztéséről. Vizsgálatunkban az SCP-ben a retinális érsűrűség a cukorbetegéknél szignifikánsan csökkent a felső, a temporális és a nazális kvadránsban. A DCP-ben csak a superior érsűrűség csökkent szignifikánsan a diabéteszes betegeknél. Diabéteszes betegeinknél szignifikáns FAZ-növekedést figyeltünk meg az SCP-ben. A ganglionsejt-komplex vastagsága vizsgálatunkban szignifikánsan csökkent DM-ben.

Összefoglalva, a szubbazális idegrostok morfológiája jelentősen megváltozott a diabétesz mellituszban szenvedő betegeknél, de nem mutatott szignifikáns korrelációt a betegség időtartamával és a HbA1c-vel. Eredményeink a szaruhártya idegrostjainak

kifejezettebb és korábbi károsodására utalnak, mint a retina mikrovaszkulaturájának károsodására diabétesz mellituszban szenvedő betegeknél.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktori, mutációs és metasztatikus rátája

3.1 Uvea melanoma nervus opticus inváziója

Eredményeink alapján a chorioidealis melanoma látóideg-inváziójának négy mechanizmusát írtuk le. Az esetek 86%-ában peripapilláris lokalizáció volt jelen és a közvetlen peripapilláris invázió volt a látóideg invázió leggyakoribb mechanizmusa. A Collaborative Ocular Melanoma Study arról számolt be, hogy enukleált primer uvea melanomás szemekben a tumor 16,7%-a juxtapapilláris lokalizációban jelentkezett és e minták 39,6%-a mutatott látóideg-inváziót, amelynek 1,1%-a lamina cribrosán túl terjedt.

Eseteink 43%-ában figyeltük meg a chorioidea melanoma retinális invázióját és ezen esetek 23%-ában a retinális invázió volt az elsődleges mechanizmus, amely a látóideg inváziójához vezetett. A retinainváziót mutató enukleációs mintákban a szóródott melanomasejtek malignus preretinalis pigmentált membránt képezhetnek. Megfigyeltünk olyan uvea melanoma sejteket is, amelyek az ILM mentén terjedtek és elérték a látóidegfőt. Ezt a növekedési mintázatot a retinális invázió egyik alosztályába soroltuk. Két mechanizmust feltételezünk a melanoma transzvitreális terjedésének magyarázatára. Ezek a sejtek hajlamosak a lamina cribrosán túl a látóidegfőbe és a látóidegbe behatolni. Feltételezik, hogy az emelkedett intraokuláris nyomás fokozza a szóródott életképes tumorsejtek tapadását a látóideghez és annak invázióját.

Összefoglalva, a primer chorioidea melanoma látóideg-inváziójának négy mechanizmusát figyeltük meg. Sorozatunkban a peripapilláris tumorlokalizáció volt a leggyakoribb. A peripapilláris elhelyezkedés azonban nem feltétlenül az egyetlen hajlamosító tényező a chorioidea melanoma látóideg-inváziójára. A szomszédos szövetek tumoros infiltrációja az agresszív tumoros viselkedés egyik jellemzője. A chorioidea melanoma

transzvitreális és retinális terjedése hasonló terjedési mechanizmusokat mutatott, mint a retinába és az üvegtestbe metasztatizáló daganatok esetében. Az ilyen növekedési mintákat mutató chorioideális melanomák agresszív fenotípussal rendelkezhetnek, hasonlóan a rossz prognózisú szisztémás tumorok vitreoretinális metasztázisához. Ezzel szemben a legtöbb látóideg érintettségű peripapilláris melanomában inkább a daganat volumen mechanikus terjeszkedése, mint agresszív infiltratív növekedési mintázat figyelhető meg.

3.2 Uvea melanoma BAP1 immunreaktivitása

Familiáris uvea melanomák kb. 22%-ában (8% és 50% között) mutathatók ki a perifériás vérből csírasejtes BAP1 mutációk, szemben a spontán előforduló uvea melanomás esetekkel, ahol csupán 2-4%-ban. Ugyanakkor a szomatikus BAP1 mutációk magasabb arányáról (körülbelül 47,4%) számoltak be primer uvea melanomában. A metasztatikus uvea melanoma teljes exom szekvenálása a metasztatikus tumorok 81-84%-ában azonosított inaktivációs szomatikus mutációkat a BAP1-ben. Ewens és munkatársai arról számoltak be, hogy a BAP1 mutációt hordozó uvea melanomák 77%-ában metasztázis fejlődött ki. Harbour és munkatársai határozottan arra utaltak, hogy az uvea melanoma metasztatikus kompetenciájának kialakulásához a BAP1 inaktivációra mint döntő eseményre van szükség.

A BAP1 mutációval társuló tumor predispozíciós szindrómában (TPDS) szenvedő betegeknél a korábbi adatok szerint megnövekedett a különböző malignus daganatok, köztük az uvea melanoma kockázata. A BAP1 mutációval társuló TPDS autoszomális domináns mintázatban öröklődik, magas penetranciával. A rosszindulatú daganatok korai megjelenési életkorát a magas kockázatú örökletes rákos hajlam fontos jellemzőjének tartják még a TPDS esetében is, amelyben a uvea melanoma a legkorábban jelentett malignus megbetegedés. Ez az eredmény alátámasztja, hogy a BAP1 szűrését fiatal uvea melanomás betegeknél prognosztikai célból fontolóra kell venni.

Vizsgálatunkban a metasztatikus uvea melanomás betegeknél szignifikánsan alacsonyabb nukleáris BAP1 immunreaktivitást figyeltünk meg a metasztázis nélküli betegekhez képest. A citoplazmatikus BAP1 festődés tekintetében nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a két betegcsoport között. A nukleáris BAP1 festődés az áttét nélküli betegek 10%-ánál volt alacsony (1. grádus), míg az áttétes melanomás betegek 70%-ánál. A metasztázis nélküli betegek egyikénél sem volt látható a nukleáris BAP1 festődés hiánya (0. grádus), míg a metasztatizos betegek 45%-ánál 0. grádusú nukleáris BAP1 festődést találtunk. Van de Nes és munkatársai nem észleltek kimutatható BAP1 mutációt a pozitív nukleáris BAP1 festődéssel rendelkező melanomákban. Minden BAP1 mutációval rendelkező mintájukban a BAP1 immunreaktivitás elvesztését találták, függetlenül a mutáció típusától, amelyet Sanger-szekvenálással, géndózis és metilációs elemzéssel mértek.

Korábbi tanulmányok arról számoltak be, hogy a BAP1 egy kromatinhoz kapcsolódó fehérje és immunhisztokémiával értékelve a sejtmagban található. A vad típusú BAP1-ről kimutatták, hogy előnyösen a sejtmagban található, míg a mutáns BAP1 fehérjék csökkent nukleáris lokalizációt mutattak, fokozott citoplazmatikus megjelenéssel. Bizonyították, hogy a BAP1 fehérje nukleáris lokalizációja szükséges a tumorszuppresszor aktivitáshoz. Ez összhangban van a mi vizsgálatunkkal, melyben az alacsony nukleáris BAP1 immunreaktivitású uvea melanomás betegeknél a metasztázisok fokozott előfordulását mutatták ki. Az áttétképződésig eltelt becsült átlagos idő $39,06 \pm 7,41$ hónap volt az alacsony nukleáris BAP1 festődés esetén és $138,12 \pm 16,22$ hónap a magas nukleáris BAP1 festődés esetén. Megerősítettük, hogy a tumor vastagsága, a legnagyobb tumor bazális átmérője, az előrehaladottabb TNM-stádium és a nukleáris BAP1 festődés hiánya statisztikailag szignifikáns kapcsolatban áll az áttét jelenlétével. Amikor azonban ezeket a paramétereket többváltozós elemzéssel vizsgáltuk, a nukleáris BAP1 festődés volt az egyetlen szignifikáns változó. A mi eredményeinkhez hasonlóan mások is találtak szignifikáns összefüggést a BAP1

immunreaktivitás és a metasztatikus progresszió között uvea melanomában. Matattall és munkatársai kimutatták, hogy a BAP1 szükséges a melanocita-identitás fenntartásához az uvea melanoma sejtekben és hogy a BAP1 elvesztése sérült sejtidentitáshoz és az őssejt-szerű viselkedés erősödéséhez vezet. Decatur és munkatársai feltételezték, hogy a BAP1 mutáció valószínűleg a tumor progressziójának későbbi szakaszában alakul ki és prognosztikai jelentőséggel bír.

A metasztázismentes túlélés szignifikánsan hosszabb volt azoknál az uvea melanomás betegeknél, akiknél a primer tumorsejtek erős nukleáris BAP1 festődést mutattak. A BAP1 immunreaktivitás a sejtmagban minden metasztázis nélküli betegnél kimutatható volt, a megfelelően működő BAP1 fehérjét jelző nukleáris BAP1 expresszió a metasztatikus uvea melanomás betegek 45%-ánál teljesen elveszett, 70%-ánál pedig alacsony volt. Jelentős bizonyítékot találtunk arra, hogy a nukleáris BAP1 immunreaktivitás különböző fokozatait mutató uvea melanomás betegeknél az áttétképződésig eltelt idő között különbség van. Az alacsony nukleáris BAP1 festődésű betegeknél nagyobb volt az áttétképződés esélye. Az alacsonyabb nukleáris BAP1 immunreaktivitás mellett a nagyobb tumorvastagság, a bazális átmérő és az előrehaladottabb TNM-stádium is jelentősen hozzájárult a metasztatikus betegség kialakulásához. A nukleáris BAP1 festődés volt azonban az egyetlen szignifikáns független előrejelzője az áttétes betegségnek a többváltozós elemzésben. Adataink alátámasztják a primer uvea melanoma sejtek BAP1 immunhisztokémiai festésének szerepét az metasztázis kockázat értékelésében.

3.3 Uvea melanoma mutációs és metasztatikus rátája

Az uvea melanoma esetében a halálozás csúcspontja körülbelül két évvel a kezelés/diagnózis után következik be. Feltételeztük, hogy ez a hatás legalább részben az uvea melanoma sztochasztikus tulajdonságainak köszönhető. Más szavakkal, a metasztázis és a

metasztázissal összefüggő halálozás uvea melanomában részben véletlen változók által határozható meg. Egy gén spontán mutációs rátáját génenként és osztódásonként 2×10^{-7} -nek feltételezik. Tanulmányunkban a számított mutációs ráták $1,09 \times 10^{-8}$ és $7,86 \times 10^{-7}$ között mozogtak sejtosztódásonként az uvea melanomák esetében a kalkulációs módszerünkkel. A primer uvea melanoma esetében a medián megduplázódási idő 154 és 511 nap között változik. A korábban közölt növekedési ráták alapján úgy tűnik, hogy a primer uvea melanoma körülbelül 10 évvel a klinikai diagnózis felállítása előtt kialakul és a nyugvó máj mikrometasztázisok körülbelül 5 évvel a klinikai felismerés előtt fejlődnek ki.

Eredményeink alátámasztják azt a hipotézist, hogy uvea melanoma esetében az áttétképződési rátával korreláló tumorméret nagyrészt a tumorokban lévő természetes mutációk számával magyarázható, ami összhangban van azzal az elképzeléssel, hogy a tumor heterogenitása a mutációk szubklonális felhalmozódásából ered. Ugyanakkor kisebb tumorok esetében magasabb mutációs rátát figyeltünk meg. Az uvea melanoma expansziós fázisaiban bekövetkező sejtosztódások száma valószínűleg magasabb a kis tumorok esetében, azaz amikor a daganat elkezd növekedni, mivel a tumorsejtek megduplázódási ideje a daganat növekedésével meghosszabbodik. Mielőtt egy tumor 109 sejtnél (=1 g) kimutathatóvá válik, körülbelül 30 populációs megduplázódáson kell átesnie. A halálos daganat tömegméretéhez (= 1 kg) azonban már csak 10 további megduplázódásra van szükség.

A Rotterdam Ocular Melanoma Study Group vizsgálta az EIF1AX, SF3B1 és BAP1 mutáció összefüggését a betegségmentes túléléssel és az áttétképződési kockázattal uvea melanomás betegeknél. Az uvea melanomával kezelt betegek túlélési görbéin három lejtőt lehetett azonosítani, az első lejtő a BAP1 mutáció görbéjén 3 évnél, a második lejtő az SF3B1-mutáció görbéjén 7-8 évnél, a harmadik lejtő pedig az EIF1AX-mutáció görbéjén 8 évnél. A COMS-grafikonon három csúcspont figyelhető meg a halálozási arányok tekintetében a kezelést követő 3, 5 és 8 évben. Ezért e géneknek a Rotterdam Ocular Melanoma Study Group

által szolgáltatott mutációs elemzése és az általuk frissített adatokon végzett meta-analízisünk magyarázatként szolgálhat a COMS-tanulmány eredményeihez. Az első és a második csúcs erősen összefügg a BAP1 mutációval kapcsolatos alacsony túlélési rátával. A harmadik csúcs egybeeshet az SF3B1-mutációnak az áttétképződésre és a túlélés valószínűségére gyakorolt hatásával. A rotterdami adatok meta-analízisét követően a BAP1 mutációk esetében 3,5 évnél, az SF3B1-mutáció esetében pedig 2 és 3 év között, az SF3B1-mutáció esetében pedig 7 évnél késői csúcst figyelünk meg az áttétképződésben az elsődleges uvea melanoma kezelését követően.

Összefoglalva, eredményeink arra utalnak, hogy az uvea melanoma esetében az áttétképződési rátával korreláló tumorméret nagyrészt magyarázható az egyes tumorsejtek állandó (intrinsic) mutációs rátájával. Ugyanakkor kisebb tumorok esetében magasabb mutációs rátát figyelünk meg, ami a kisebb uvea melanomák expansziós fázisaiban bekövetkező nagyobb számú sejtosztódásnak tulajdonítható. A klinikailag észlelt áttétképződésig eltelt idő tekintetében az első két csúcs egybeesik a BAP1-mutálódott tumorokkal, a késői csúcs pedig az SF3B1-mutálódott tumorokkal. Ez a Zimmerman-McLean-Foster-hatás sztochasztikus mutációs rátára és a mutáció specifikus típusára ad magyarázatot.

3.4 Uvea melanoma BAP1 mutáció kialakulásának ideje

A jelen tanulmány a BAP1 elvesztéses mutáció kialakulásának időpontját becsli az UM evolúciója során. Az áttétképződési folyamatról szóló korábbi publikációk, valamint az elsődleges tumor és az áttétek megduplázódási idejének ismeretében létrehoztunk egy az UM növekedésére és terjedésére vonatkozó modellt. Számításaink azt mutatták, hogy egy átlagos uvea melanoma első BAP1 mutáns klónja akkor jelenik meg, amikor a tumor 166 nap és 1665 nap között van, azaz az első UM-klón 2 sejtduplázódásán belül. A mikrometasztatikus szóródás a tumor kialakulása után 4,2 évre becsültük, ami megegyezik a BAP1 mutáció számított

létrejöttével. Így matematikai magyarázatot sikerült adnunk a mikrometasztázisok megjelenésére a tumor evolúciójának kezdetén és hangsúlyozzuk a BAP1 mutáció jelentőségét a tumorgenezisben.

A BAP1 mutáció korai megjelenését valószínűleg evolúciós nyomás segíti elő. A hipoxia és az immunelkerülés két hozzájáruló tényező lehet. Ahogy a tumor növekszik, a tápanyagok alacsonyabb kínálata miatt nagyobb a kockázata a hipoxiának. A BAP1 mutáns klón hipoxiás körülmények között előnyben részesülhet és fokozatosan a tumor nagyobb részét kezdi alkotni. Továbbá, ha a BAP1 mutáns sejtek összejt-jellegűbbek, akkor az immunelkerülésre is nagyobb mértékben képesek, ezáltal túlélve a vad típusokat. Mind a hipoxiás, mind az összejt-szerű tulajdonságok evolúciós előnyt biztosítanak a BAP1 mutánsoknak a vad típusú sejtekkel szemben. Vizsgálatunk azt sugallja, hogy a BAP1 mutáció a tumorgenezis korai szakaszában jelentkezik, valószínűleg akkor, amikor a tumor néhány rosszindulatú sejtből áll. A tumor mikro környezetének követelményei magyarázhatják a BAP1 mutáns klón keletkezését és a mikrometasztázisok terjedés közötti késleltetést.

Összefoglalva, a BAP1 mutáció az UM növekedésének korai szakaszában, jóval a primer tumor diagnosztizálása előtt jelentkezik és az időzítés egybeesik a korábbi számításokkal arra a tumorméretre vonatkozóan, amelynél a mikrometasztázisok elszaporodása megkezdődik. A primer tumor diagnózisának időpontjában a primer tumor, a BAP1 mutáció és a máj mikrometasztázisok egy vagy több évtizedes korúak. Figyelembe véve, hogy a betegek átlagos életkora a diagnózis felállításakor körülbelül 60 év, ezek a döntő tumoresemények 20-50 éves korban következtek be. A BAP1 mutagenézis és a mikrometasztázisok nyugalmi állapotát elősegítő, illetve a proliferációs hajlamot gátló tényezők megismerése előmozdíthatja a hatékony terápiás targetek megtalálását, amely növelheti a betegek túlélését.

Új eredmények összefoglalása és klinikai jelentőségük

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

Legjobb tudomásunk szerint elsőként tanulmányoztuk és publikáltuk a könny ozmolaritás meghatározását TearLab rendszerrel a vízhiányos száraz szem két etiológiai altípusában (a nem-Sjögren és a Sjögren-szindrómás száraz szemben) és egészséges egyéneknél. A jelen vizsgálat jelentős átfedést mutatott ki a kontroll és a száraz szem csoportjainak könny ozmolaritás értékei között. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a könny ozmolaritást a hagyományos száraz szem diagnosztikai tesztekkel kombinálva kell értékelni.

Tudomásunk szerint elsőként írtuk le szisztémás szklerózisban szenvedő betegek szaruhártyájának ultrastrukturális jellegzetességeit in vivo. Megerősítettük és dokumentáltuk az 1984-ben Cockburn által megfigyelt morfológiai eltéréseket SSc betegek corneájában. Súlyos szemfelszíni betegséget is megfigyeltünk szisztémás szklerózisban szignifikáns szubbazális idegi károsodással, amely perifériás neuropátiára utal. Továbbá szignifikáns összefüggést igazoltunk az idegrost károsodás és a betegség fennállási ideje között.

Tanulmányunk az irodalomban ezidáig a legnagyobb, a szemfelszíni funkcionális egységet vizsgáló, epizodikus migrénben szenvedő betegekből álló kohorsz. A szaruhártya dendritikus sejtsűrűségének és a dendritikus sejtek területének jelentős növekedése volt kimutatható a migrénes betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest, amely neuroinflammáció jelenlétére utal a szaruhártyában.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései

Kutatómunkánk eredményeként az irodalomban elsőként közöltük OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkóppal szimultán végzett vizsgálatok adatait a retinális mikrovaszkuláris károsodás és a corneális neurodegeneráció egyidejű kimutatására.

Kutatásunk során hospitalizációt nem igénylő, enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 infekción átesett, oltatlan betegeknél tanulmányoztuk a mikrovaszkuláris és a neurodegeneratív elváltozásokat. A corneális szubbazális idegrostok paramétereiben szignifikáns csökkenést és megváltozott morfológiát mutattunk ki. Összetett vizsgálatunk eredményeként az irodalomban elsőként publikáltuk a corneális és retinális neurodegeneráció és a retinális mikrovaszkuláris eltéréseket és azok összefüggését SARS-CoV-2 fertőzést követően.

SARS-CoV-2 fertőzést követően idegi károsodásra és regenerációra utaló jeleket azonosítottunk a szaruhártya szubbazális idegi plexusában. Az infekción átesett betegeknél mikroneuromákat detektáltunk a szubbazális idegi plexusban és a stromális idegek szintjében is. Vizsgálatunkban szignifikánsan magasabb corneális dendritikus sejt sűrűséget és területet találtunk az enyhe COVID-19 betegségeen átesetteknél egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Az irodalomban először közöltük a cornea sejtes és ultrastrukturális eltéréseit a SARS-CoV-2 fertőzést követően, melyek a betegség neuroinflammatorikus következményeit demonstrálhatják a szaruhártyában egyéb szemészeti eltérés hiányában.

Cukorbetegségben végzett vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a corneális szubbazális idegrost morfológia és a retinális kapilláris sűrűség szignifikánsan megváltozik diabétesz mellitusz esetén még az oftalmoszkóppal látható szemfenéki elváltozások megjelenése előtt. Eredményeink alapján diabétesz mellituszban a corneális idegrostok a retinális mikrovaszkulaturával összehasonlítva korábbi és kifejezettebb károsodást szenvednek. Tudomásunk szerint az irodalomban elsőként publikáltuk a cornea szubbazális idegi plexusának és a látóhártya kapilláris hálózatának egyidejű károsodását ugyanazon betegpopuláción manifeszt diabétesz esetén.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

Négy mechanizmust figyeltünk meg a chorioidea melanoma nervus opticus inváziójával kapcsolatban. Eseteink 86%-ában a daganat peripapilláris lokalizációban helyezkedett el és a direkt peripapilláris terjedés volt a leggyakoribb módja az opticus érintettségnek. A transzvitreális és retinális szóródás chorioidea melanomák esetében is az agresszív fenotípus jele, hasonlóan a szisztémás daganatok vitreoretinális metasztázisához, kedvezőtlen prognózissal.

A BAP1 immunreaktivitást vizsgálva a metasztázis-mentes túlélés szignifikánsan hosszabb volt erős magi BAP1 festődéssel rendelkező primer UM-ban. Az alacsony nukleáris BAP1 reaktivitást mutató betegek esetén nagyobb esélye volt az áttét képződésének. Az alacsony magi BAP1 immunreaktivitás mellett a nagyobb tumor vastagság és alap, valamint az előrehaladottabb TNM stádium szintén emelte a metasztázis kialakulásának esélyét. Azonban a magi BAP1 festődés volt az egyetlen szignifikáns független prediktora az áttét kialakulásának. Eredményeink alátámasztják a BAP1 immunhisztokémia szerepét az uvea melanoma metasztázis rizikó prognosztikájában.

Kisebb méretű UM-nál magasabb mutációs rátát figyeltünk meg, amely magyarázható azzal, hogy nagyobb számú sejtosztódás történik a kis melanomák expanszív fázisában. Egy gén spontán mutációs rátája feltételezhetően 2×10^{-7} per gén per osztódás, vizsgálatunkban a mutációs ráta $1,09 \times 10^{-8}$ és $7,86 \times 10^{-7}$ per sejt osztódás között alakult. Uvea melanomában tehát a tumor mérettel összefüggő metasztázis ráta magyarázható az egyes tumor sejtek konstans (intrinsic) mutációs rátájával. Első két csúcs a klinikailag detektálható metasztázisig eltelt időben - eredményeink alapján - megfelelhet a BAP1 mutálódott tumoroknak, a későbbi csúcs pedig az SF3B1 mutálódott tumoroknak.

A BAP1 mutáció az uvea melanoma korai növekedési fázisában bekövetkezik, korábban, mint ahogy a daganat felfedezésre kerül. A primer tumor diagnózisának idején a

primer melanoma és a máj mikrometasztázisok akár egy vagy több évtizede fennállhatnak. Eddigi ismeretek alapján az uvea melanomák közel felében a BAP1 mutáció 0,5-5 év múlva alakul ki, amikor a tumor térfogata $< 10 \text{ mm}^3$. Ekkor történik meg a mikrometasztázisok szóródása a májba. Ahogy a primer daganat növekszik, a BAP1-mutálódott klónnak a túlélése jobb, mint a vad típusú sejteknek, így fokozatosan átveszik azok helyét. Egy átlagos méretű UM térfogata a diagnóziskor 350 mm^3 , ezt a méretet a kialakulásához képest 9,5-38 év múlva éri el. A mikrometasztázisok évekig dormáns (nyugvó) állapotban vannak és klinikailag nem detektálhatók. Későbbi stádiumban a primer tumor – kevés kivételtől eltekintve - már csak BAP1 mutálódott sejtekből áll. Végző soron a mikrometasztázisok elveszítik dormanciájukat és radiológiailag detektálható áttétekké alakulnak. Saját megfigyeléseink alapján a teljes folyamat a primer tumor kialakulásától a metasztatikus halálozásig 1-5 évtizedet vesz igénybe.

Publikációk, amelyek felhasználásra kerültek az értekezés megírásához

A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1. Módis L, Szalai E, Szekanecz Z, Szűcs G, Szamosi Sz, Vánca A, Berta A. [Evaluation of tear osmolarity with the TearLab osmometer in patients with Sjögren syndrome.] [Hungarian] Szemészet 2010; 147:138-142.
2. Szalai E, Berta A, Módis L. [Evaluation of a novel technique for imaging of the anterior segment: Fourier domain OCT.] [Hungarian] Szemészet 2011; 148:65-72.
3. Módis Jr L, Szalai E. Dry eye diagnosis and management. Expert Rev Ophthalmol 2011; 6:67-79.
4. Szalai E, Berta A, Szekanecz Z, Szűcs G, Módis Jr L. Evaluation of tear osmolarity in non-Sjögren and Sjögren syndrome dry eye patients with the TearLab system. Cornea 2012; 31:867-871. IF: 1,746
5. Módis L, Szalai E, Berta A. [Dry eye diagnosis and management.] [Hungarian] Orvostovábbképző Szemle 2013; 6:11-19.
6. Szalai E, Szucs G, Szamosi S, Aszalos Z, Afra I, Kemeny-Beke A. An in vivo confocal microscopy study of corneal changes in patients with systemic sclerosis. Sci Rep. 2021; 11: 11111. IF: 4,997
7. Patzkó A, Csutak A, Tóth N, Kölkedi Z, Pfund Z, Kis-Jakab G, Bosnyák E, Rozgonyi R, Szalai E. Analysis of the ocular surface functional unit in episodic migraine. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. DOI: 10.1007/s00417-023-06324-6. Közlésre elfogadva IF: 2,700

Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

8. Kölkedi Z, Csutak A, Szalai E. Analysis of microvascular and neurodegenerative complications of mild COVID-19. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2022; 260:2687-2693. IF: 2,700
9. Kölkedi Z, Csutak A, Szalai E. Corneal Cellular and Neuroinflammatory Changes After SARS-CoV-2 Infection. Cornea. 2022; 41:879-885. IF: 2,800
10. Kölkedi Z, Csutak A, Szalai E. Pre-Ophthalmoscopic Quantitative Biomarkers in Diabetes Mellitus. Transl Vis Sci Technol. 2023;12:24. IF: 3,000

Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

11. Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE. Mechanisms of Optic Nerve Invasion in Primary Choroidal Melanoma. *Ocul Oncol Pathol*. 2017; 3:267-75.
12. Szalai E, Wells JR, Ward L, Grossniklaus HE. Uveal Melanoma Nuclear BAP1 Immunoreactivity is an Indicator of Metastasis. *Ophthalmology* 2018; 125:203-9. IF: 7,732
13. Szalai E, Jiang Y, van Poppelen NM, Jager MJ, de Klein A, Kilic E, Grossniklaus HE. Association of Uveal Melanoma Metastatic Rate With Stochastic Mutation Rate and Type of Mutation. *JAMA Ophthalmol*. 2018; 136:1115-20. IF: 6,167
14. Uner OE, See TRO, Szalai E, Grossniklaus HE, Stålhammar G. Estimation of the timing of BAP1 mutation in uveal melanoma progression. *Sci Rep*. 2021; 11:8923. IF: 4,997

Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

1. Módis L Jr, Szalai E, Kertész K, Kemény-Beke A, Kettesy B, Berta A. Evaluation of the corneal endothelium in patients with diabetes mellitus type I and II. *Histol Histopathol*. 2010; 25:1531-7. IF: 2,502
2. Szalai E, Deák E, Módis L Jr, Németh G, Berta A, Nagy A, Felszeghy E, Káposzta R, Malik RA, Csutak A. Early Corneal Cellular and Nerve Fiber Pathology in Young Patients With Type 1 Diabetes Mellitus Identified Using Corneal Confocal Microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57:853-8. IF: 3,303
3. Liao A, Mittal P, Lawson DH, Yang JJ, Szalai E, Grossniklaus HE. Radiologic and Histopathologic Correlation of Different Growth Patterns of Metastatic Uveal Melanoma to the Liver. *Ophthalmology*. 2018; 125:597-605. IF: 7,732
4. Gorham JP, Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE. Retinoinvasive Uveal Melanoma: Report of 2 Cases and Review of the Literature. *Ocul Oncol Pathol*. 2017; 3:292-5.
5. Deák EA, Szalai E, Tóth N, Malik RA, Berta A, Csutak A. Longitudinal Changes in Corneal Cell and Nerve Fiber Morphology in Young Patients with Type 1 Diabetes with and without Diabetic Retinopathy: A 2-Year Follow-up Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019; 60:830-837. IF: 3,470
6. Tóth N, Szalai E, Rák T, Lillik V, Nagy A, Csutak A. Reliability and clinical applicability of a novel tear film imaging tool. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021; 259: 1935-1943. IF: 3,535

SCIENTOMETRIA

Könyvrészletek száma: 1

Tudományos folyóiratcikkek száma: 73

Első szerzős folyóiratcikkek száma: 17 (összes hivatkozás: 407)

Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma: 8 (összes hivatkozás: 22)

Az utolsó tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2012-) teljes tudományos folyóiratcikkek száma: 51 (összes hivatkozás: 767)

Az utolsó 10 év (2014-2024) tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma: 41 (összes hivatkozás: 526)

Független hivatkozások száma: 1123

Hivatkozások teljes száma: 1213

Hirsch index: 20

Összesített impakt faktor: 130,937