

Opponensi vélemény

**Dr. Szalai Eszter “Az emberi szem *in vivo* és *ex vivo* vizsgálatainak prognosztikai jelentősége elülső és hátsó szegmentumot érintő kórképekben” című
MTA Doktori értekezéséhez**

Dr. Szalai Eszter értekezésének célkitűzése a szemfelszíni egység szisztémás betegségeiben való vizsgálata volt, valamint a szisztémás betegségek okozta szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérések kutatása, továbbá az uvea melanoma prognosztikai tényezőinek, mutációs gyakoriságának és metasztatikus rátájának meghatározása. A 178 oldalas disszertáció felépítése megfelel a doktori művekkel szemben támasztott követelményeknek, átlátható és alaposan kidolgozott. A megértést 20 jól felépített táblázat és további 36 jó minőségű ábra segíti elő. A doktori dolgozat alapját 14 rangos nemzetközi folyóiratban megjelent eredeti közlemény képezi, melyek közül 3-ban első, 5-ben pedig utolsó szerzőként szerepel a jelölt. Dr. Szalai Eszter emellett további 62 közleményt jegyez. Az irodalomjegyzék megfelelően ötvözi a dolgozat megértéséhez szükséges alapvető szakirodalmat a naprakész kutatási forrásokkal, és összesen 288 irodalmi hivatkozást tartalmaz. A disszertáció igényességét az is mutatja, hogy csak elvétve található benne gépelési hiba. Dr. Szalai Eszter összesített IF-a 130,937 volt a disszertáció benyújtásakor, Hirsch indexe 20, tehát kimagasló tudományos tevékenységet tükröz.

A jelölt a dolgozatban kitűzött három célját következetesen és didaktikusan vezeti végig. A módszertani rész, az eredmények bemutatása és a levont következtetések is logikusan felépítettek, érthetően kerültek bemutatásra. A dolgozat elején található rövidítésjegyzék, amely magyar és angol nyelven is tartalmazza a rövidítéseket, szintén segíti a dolgozat könnyebb megértését.

A disszertáció különösen sokszínű szemészeti témaköröket ölel fel, mégis egységes és jól strukturált egészet alkot. Világosan bemutatja, hogy Dr. Szalai Eszter nemcsak a szem elülső, hanem a szem hátsó szegmentumának magas színvonalú vizsgálatában is jártasságot szerzett. Ezen túlmenően, nemcsak a különböző képalkotó eljárások terén mutatott kiemelkedő eredményeket, hanem a szövettani elemzésekben is, mindezt nemzetközi szinten elismert tudományos munkaként.

Az MTA doktori értekezésének szövege olvasmányos és választékos, a gondosan megválasztott magyar kifejezések pedig még gördülékenyebbé teszik az olvasást.

Kérdéseim az alábbiak:

1. Jelenleg folytatnak-e további kutatásokat a szisztémás sclerosis, migrén és diabetes mellitus, illetve a SARS-Covid fertőzést követően, a konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálatok alapján? Hogyan hasznosulnak a biomarkerekről szerzett információk a mindennapi klinikai gyakorlatban?
2. Mennyiben befolyásolhatták, illetve befolyásolhatják szisztémás sclerosisban illetve migrénben a betegek által szedett gyógyszerek (pl. esetleges biológiai terápia stb.) az in vivo konfokális mikroszkópos eredményeket? Tekintetbe vették-e a szedett gyógyszereket vizsgálataik során?
3. Milyen különbségeket javasol a primer és szekunder Sjögren-szindróma szemészeti kezelésében a mérései alapján?
4. Mit javasol, hogyan járjuk el a primer és szekunder Sjögren szindróma elkülönítésében a mindennapi szemészeti klinikai gyakorlatban? Van-e jelentősége a két entitás elkülönítésének?
5. Eredményei alapján milyen gyakorisággal javasolja a pupillatágítással végzett szemészeti vizsgálatot, hogy a choroidea melanoma korán felismerhető legyen, és elkerülhetővé váljon a mikrometasztázisok kialakulása?
6. Az in vivo konfokális mikroszkópos vizsgálatot, véleményem szerint, mivel kontakt, invazívnak tekinthetjük. Miért sorolja mégis a jelölt a nem invazív vizsgálatok közé? Ugyanakkor a könnyfilm felszakadási idejének (BUT) mérését a 15. oldalon invazív vizsgálatként említi.
7. A szerzők csoportosították-e a dendritikus sejteket az érettségük szerint is, tehát alkalmazták-e a Resch-féle klasszifikációt? Lehetséges-e különbség a dendritikus sejtek érettségi állapotában az egyes vizsgálatok során, és ha igen, milyen esetekben (SS, migrén, DM, SARS-covid infekció után)?
8. Megfigyeltek-e esetleg in vivo konfokális mikroszkóp segítségével pontszerű lerakódásokat a stromában (SS, migrén, DM, SARS-covid infekció után)? Az Utheim-féle beosztás alkalmazható-e a vizsgált betegek esetén?
9. A leírás szerint a Pentacam a teljes szaruhártyáról készít képet. Ez legfeljebb mekkora átmérőjű területet fed le?
10. A bevezetőben megemlítette a Bowman-membránt. Mi a különbség a Bowman-lamella/réteg és a Bowman-membrán között?

11. Az uveális melanoma tekintetében tervez-e további vizsgálatokat? Működik-e Magyarországon Regiszer az uveális melanoma tekintetében és ha igen, hogyan működik jelenleg ez a Regiszer és milyen feladatokat lát el?

Új eredményként ismerem el:

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

Elsőként tanulmányozta és publikálta a könny ozmolaritás meghatározását TearLab rendszerrel a vízhiányos száraz szem két etiológiai altípusában (a nem-Sjögren és a Sjögren-szindrómás száraz szemben) és egészséges egyénekben. A vizsgálat jelentős átfedést mutatott ki a kontroll és a száraz szemes csoportjaink könny ozmolaritás értékei között. Arra a következtetésre jutott, hogy a könny ozmolaritást a hagyományos száraz szem diagnosztikai tesztekkel kombinálva kell értékelni.

Elsőként írta le szisztémás szklerózisban szenvedő betegek szaruhártyájának ultrastrukturális jellegzetességeit in vivo. Megerősítette és dokumentálta az 1984-ben Cockburn által megfigyelt morfológiai eltéréseket SSc betegek corneájában. Súlyos szemfelszíni betegséget is megfigyelt szisztémás szklerózisban szignifikáns szubbazális idegi károsodással, amely perifériás neuropátiára utal. Továbbá szignifikáns összefüggést igazolt az idegrost károsodás és a betegség fennállási ideje között.

Tanulmánya 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 mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

Az irodalomban elsőként közölte OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkóppal szimultán végzett vizsgálatok adatait a retinális mikrovaskuláris károsodás és a corneális neurodegeneráció egyidejű kimutatására.

Kutatása során hospitalizációt nem igénylő, enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 infekción átesett, oltatlan betegeknél tanulmányozta a mikrovaskuláris és a neurodegeneratív

elváltozásokat. A corneális szubbazális idegrostok paramétereiben szignifikáns csökkenést és megváltozott morfológiát mutatott ki. Összetett vizsgálata eredményeként az irodalomban elsőként publikálta a corneális és retinális neurodegeneráció és a retinális mikrovaskuláris eltéréseket és azok összefüggését SARS-CoV-2 fertőzést követően.

SARS-CoV-2 fertőzést követően idegi károsodásra és regenerációra utaló jeleket azonosított a szaruhártya szubbazális idegi plexusában. Az infekción átesett betegeknél mikroneuromákat detektált a szubbazális idegi plexusban és a stromális idegek szintjében is. Vizsgálatában szignifikánsan magasabb corneális dendritikus sejt sűrűséget és területet talált az enyhe COVID-19 betegségen átesetteknél egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Az irodalomban először közölte 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 vizsgálata során kimutatta, hogy a corneális szubbazális idegrost morfológia és a retinális kapilláris sűrűség szignifikánsan megváltozik diabétesz mellitusz esetén még az oftalmoszkóppal látható szemfenéki elváltozások megjelenése előtt. Eredményei alapján diabétesz mellituszban a corneális idegrostok a retinális mikrovaskulaturával összehasonlítva korábbi és kifejezettebb károsodást szenvednek. Az irodalomban elsőként publikálta a cornea szubbazális idegi plexusának és a látóhártya kapilláris hálózatának egyidejű károsodását ugyanazon betegpopuláción manifeszt diabétesz esetén.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktori, mutációs és metasztatikus rátája

Négy mechanizmust figyelt meg a chorioidea melanoma nervus opticus inváziójával kapcsolatban. Esetei 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. Eredményei alátámasztják a BAP1 immunhisztokémia szerepét az uvea melanoma metasztázis rizikó prognosztikájában.

Kisebb méretű UM-nál magasabb mutációs rátát figyelt meg, amely magyarázható azzal, hogy nagyobb számú sejtosztódás történik a kis melanomák expanzív fázisában. Egy gén spontán mutációs rátája feltételezhetően 2×10^{-7} per gén per osztódás, vizsgálatában 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 - eredményei alapján - megfelelhet a BAP1 mutálódott tumoroknak, a későbbi csúcs pedig az SF3B1 mutálódott tumoroknak.

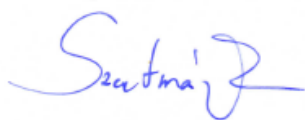
A BAP1 mutáció az uvea melanoma korai növekedési fázisában bekövetkezik, korábban, mint ahogy a daganat felfedezésre kerül. A primer tumor diagnózisának idején a primer melanoma és a máj mikrometasztázisok akár egy vagy több évtizede fennállhatnak. Eddigi ismeretek alapján az uvea melanomák közel felében 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.

Összefoglalva, a Dr. Szalai Eszter által leírt, fent összegzett eredmények közvetlen jelentőséggel bírnak a klinikai gyakorlatban.

Dr. Szalai Eszter MTA doktori disszertációját, az abban bemutatott vizsgálatokat, azok magas színvonalú közlését, valamint klinikai alkalmazhatóságát rendkívül értékesnek tartom. Az értékes munkát bizonyítja a nagyszámú, nemzetközi lapban megjelent közlemény és azok magas idézettsége is. Külön kiemelem a jelölt kooperációját számos hazai, európai és tengerentúli intézettel.

Javaslom a disszertáció nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védés esetén az MTA doktori cím odaítélését.

Budapest, 2024. október 19.



Prof. Dr. Szentmáry Nóra
klinikai kutatóprofesszor
MTA doktor