

szalaieszter_198_24

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**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.

Tartalomjegyzék

Rövidítések.....	4
BEVEZETÉS.....	7
<i>Anatómiai áttekintés.....</i>	<i>7</i>
<i>A vizsgálatainkban alkalmazott képalkotó eljárások ismertetése.....</i>	<i>12</i>
<i>In vivo konfokális mikroszkópia</i>	<i>12</i>
<i>Könnyfilm vizsgáló eljárások</i>	<i>14</i>
<i>Pentacam High Resolution (HR)</i>	<i>18</i>
<i>Az optikai koherencia tomográfia (OCT).....</i>	<i>20</i>
<i>Az optikai koherencia tomográfia angiográfia (OCTA).....</i>	<i>23</i>
<i>Szisztémás betegségek szemészeti vonatkozásai</i>	<i>25</i>
<i>Száraz szem betegség.....</i>	<i>25</i>
<i>Diabétesz mellitusz</i>	<i>27</i>
<i>A COVID-19 betegség.....</i>	<i>29</i>
<i>Szisztémás szklerózis.....</i>	<i>30</i>
<i>Migrén.....</i>	<i>31</i>
<i>Uvea melanoma</i>	<i>32</i>
CÉLKITŰZÉS	38
<i>1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben.....</i>	<i>38</i>
<i>2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései.....</i>	<i>39</i>
<i>3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája.....</i>	<i>39</i>
BETEGEK ÉS MÓDSZEREK.....	40
<i>1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben.....</i>	<i>40</i>
<i>2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései.....</i>	<i>47</i>
<i>3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája.....</i>	<i>52</i>
EREDMÉNYEK	61
<i>1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben.....</i>	<i>61</i>
<i>2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései.....</i>	<i>72</i>
<i>3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája.....</i>	<i>84</i>
MEGBESZÉLÉS	99
<i>1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben.....</i>	<i>99</i>
<i>2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései.....</i>	<i>106</i>
<i>3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája.....</i>	<i>112</i>
Tárgyszavak.....	125
Keywords	125

szalaieszter_198_24

Új eredmények összefoglalása és klinikai jelentőségük.....	126
Summary of new results and their clinical relevance.....	130
Irodalomjegyzék.....	134
<i>A hivatkozott közlemények jegyzéke.....</i>	<i>134</i>
<i>Publikációk, amelyek felhasználásra kerültek az értekezés megírásához</i>	<i>166</i>
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	177

Rövidítések

ACD	Elülső csarnok mélység (Anterior chamber depth)
ACE-2	Angiotenzin-konvertáló enzim-2 (Angiotensin-converting enzyme-2)
ANOVA	Varianciaanalízis (Analysis of variance)
APC	Antigén prezentáló sejt (Antigen presenting cell)
BAP1	BRCA1-associated protein-1
BUT	Könnyfilm felszakadási idő (Break-up time)
COMS	Collaborative Ocular Melanoma Study
COVID-19	Koronavírus betegség-2019 (Coronavirus disease 2019)
DC	Dendritikus sejt (Dendritic cell)
DCP	Mély kapilláris plexus (Deep capillary plexus)
DED	Száraz szem betegség (Dry eye disease)
DM	Diabétesz mellitusz
DR	Diabéteszes retinopátia
EIF1AX	Eukaryotic translation initiation factor 1A X-chromosomal
FAZ	Foveoláris avaszkuláris zóna
FD	Fraktál dimenzió
FFPE	Formalinban rögzített és paraffinba ágyazott (Formalin fixed paraffin embedded)
GCL	Ganglionsejt-réteg (Ganglion cell layer)
GNA11	Guanine nucleotide-binding protein subunit a-11
GNAQ	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha q
HbA1c	Hemoglobin A1c
H&E	Hematoxilin és eozin

szalaieszter_198_24

HPF	Nagy nagyítású látótér (High power field)
ILM	Belső határhártya (Internal limiting membrane)
INL	Belső magvas réteg (Inner nuclear layer)
IOP	Intraokuláris nyomás (Intraocular pressure)
IPL	Belső plexiform réteg (Inner plexiform layer)
IVCM	In vivo konfokális mikroszkópia (In vivo confocal microscopy)
KI	Konfidencia intervallum
LBD	Legnagyobb alap (Largest basal diameter)
MGD	Meibom-mirigy diszfunkció (Meibomian gland dysfunction)
NBD	Ideg elágazódás sűrűség (Nerve branch density)
NIBUT	Non-invazív könnyfilm felszakadási idő (Non-invasive break-up time)
NFA	Idegrost terület (Nerve fiber area)
NFD	Idegrost sűrűség (Nerve fiber density)
NFL	Idegrost hossz (Nerve fiber length)
NFW	Idegrost szélesség (Nerve fiber width)
NSSDE	Nem-Sjögren szindrómás száraz szem (Non-Sjögren syndrome dry eye)
NTBD	Idegrostok teljes elágazási sűrűsége (Nerve total branch density)
MCP	Középső kapilláris hálózat (Middle capillary plexus)
OCT	Optikai koherencia tomográfia (Optical coherence tomography)
OCTA	Optikai koherencia tomográfia angiográfia (Optical coherence tomography angiography)
OSDI	Ocular Surface Disease Index
PAS	Perjódsav-Schiff (Periodic acid Schiff)
PCR	Polimeráz-lánreakció (Polymerase chain reaction)
RNFL	Retinális idegrostréteg (Retinal nerve fiber layer)

szalaieszter_198_24

RNS	Ribonukleinsav
SARS-CoV-2	Súlyos akut légzőszervi szindrómát okozó koronavírus – 2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus - 2)
SCP	Felszínes kapilláris hálózat (Superficial capillary plexus)
SD	Standard deviáció (Standard deviation)
SE	Standard hiba (Standard error)
SF3B1	Splicing factor 3B subunit 1
SSc	Szisztémás szklerózis
SSDE	Sjögren szindrómás száraz szem (Sjögren syndrome dry eye)
SS-OCT	Swept-source optikai koherencia tomográfia (Swept-source optical coherence tomography)
T1DM	1-es típusú cukorbetegség (Type 1 diabetes mellitus)
T2DM	2-es típusú cukorbetegség (Type 2 diabetes mellitus)
TPDS	Tumor predispozíciós szindróma (Tumor predisposition syndrome)
UM	Uvea melanoma

BEVEZETÉS

A szem elülső és hátulsó szegmentumának megfigyelése az általános szemészeti kivizsgálás elengedhetetlen része, amely hagyományosan réslámpával történik. Ezen módszerrel azonban az itt elhelyezkedő struktúrák objektív és számszerűsíthető jellemzése akadályokba ütközik. A napjainkban egyre inkább teret hódító 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 kór állapotainak megállapítására és követésére alkalmasak, hanem lehetővé teszik szisztémás betegségek szemészeti manifesztációinak vizsgálatát, ezzel elősegítve a korai felismerést, beavatkozást, illetve a további morbiditás prevencióját.

Anatómiai áttekintés

A szem optikai rendszerének legfontosabb alkotóelemei a cornea és a szemlencse, amelyek a külvilág képét az ideghártyára vetítik.¹ A szaruhártya elülső felszíne rendelkezik a legnagyobb törőerővel főként a levegő és a szaruhártyafelszín refraktív indexe közötti különbség miatt. A szemfelszín a szaruhártya, a bulbáris és tarzális kötőhártya alkotja, amelyet a folyamatosan megújuló *precorneális könnyfilm* három rétege borítja. A könnymirigyek, a szemfelszín és a kapcsolódó szenzoros és motoros idegek együttesen képezik a szemfelszíni funkcionális egységet.² A levegő-könnyfilm határfelület a szem legelső fénytörő felszíne, refraktív indexe 1,337. A normál könnyfilm térfogata 6-7 μ l, pH-ja pedig 7,6. A könnyfilm külső rétege a lipid réteg, amelyet főként a szemhéjszél Meibom-mirigyei választanak ki. Ezen

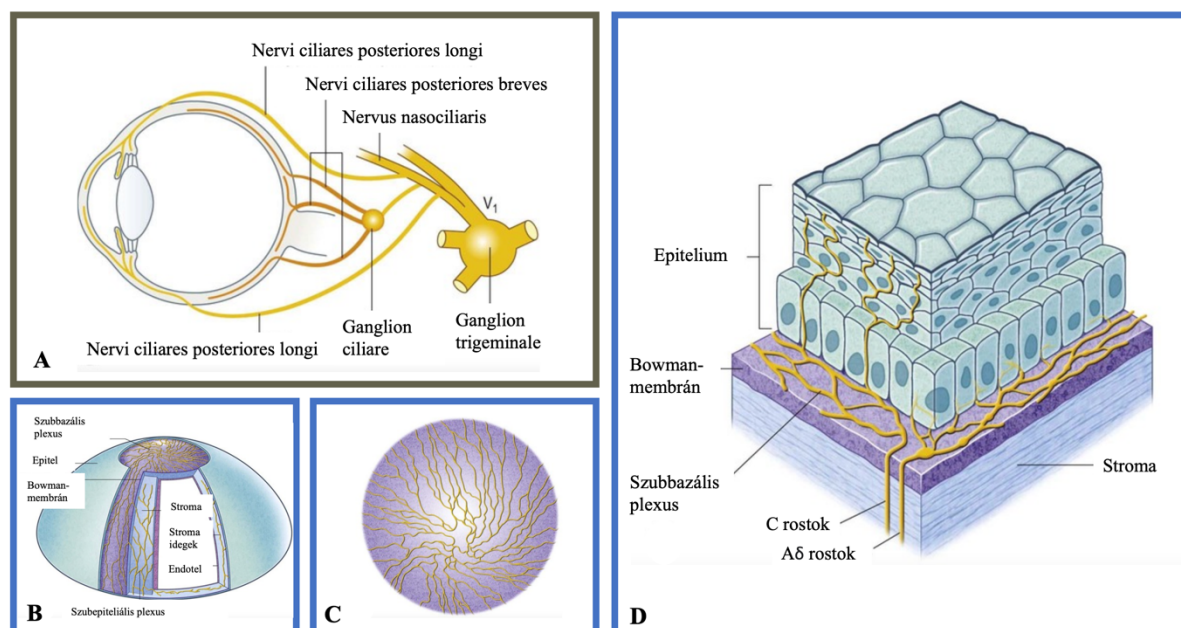
szalaieszter_198_24

réteg poláris (foszfolipidek és glycolipidek) és apoláris lipid komponensei (koleszterol és koleszterol-észterek) megakadályozzák a könnyfilm párolgását két pislogás között. A középső, vizes fázis alkotja a könnyfilm 98%-át és többnyire az orbita felső-temporális részén elhelyezkedő fő könnymirigy, valamint a járulékos könnymirigyek termelik. Magas víztartalmán kívül elektrolitok, glükóz, aminosavak, urea, enzimek és fehérjék (immunoglobulin, lizozim, laktoferrin, albumin, prealbumin) találhatóak oldott állapotban ebben a rétegben. A szemfelszín nedvesítésén kívül az oxigén és nyomelemek transzportjában vesz részt, valamint védelmi szerepe van a fertőző ágensekkel szemben. A legbelső mucin réteg a kötőhártya kehelysejtjeinek és a szemfelszín többrétegű epiteliumának a szekrétumából alakul ki. A kiválasztott és membrán-kötött mucinok elengedhetetlenek a könnyfilm szétterítésében és a szemfelszín lubrikálásában. A membrán-asszociált mucinok alkotják a glyocalixot, amely az epitelsejtek mikrovillusaihoz (cornea) és mikroplikáihoz (conjunctiva) kapcsolódik. A limbalis össejtek felelősek az epitelium megújulásáért és regenerációjáért.

A *cornea* a szemgolyó rostos burkának átlátszó része, amely óraüvegszerűen illeszkedik a sclerához. Öt rétege közül néhány sor el nem szarusodó laphámsejt alkotja a külvilág felé eső epiteliumot, amelyet bazális membrán választ el a sejtmentes Bowman-membrántól. A stroma teszi ki a szaruhártya vastagságának 90%-át, amelyet szabályosan rendeződött kollagénrostok, ezen rostok között pedig proteoglikánok, illetve keratocyták alkotnak. A Descemet-membrán a cornea legbelső rétegét alkotó endotelsejtek basális membránja. Az egy sorban elhelyezkedő hatszögletű endotelsejtek zonula occludenssel kapcsolódnak egymáshoz.³ Ezen sejtek barriert képeznek a stroma és a csarnokvíz között, másrészt aktív pumpamechanizmussal dehidrált állapotban tartják a szaruhártyát, lehetővé téve annak transzparenciáját.⁴ Az epitelsejtek, a stromális keratociták és az endotelsejtek mellett antigén prezentáló sejtek (APC) is megtalálhatók a normál emberi szaruhártyában, beleértve a dendritikus sejteket (DC) és a makrofágokat.⁵ A DC-k a csontvelőből származó antigén

prezentáló sejtek heterogén csoportja, döntő szerepük van mind a humorális, mind pedig a sejtes immunválaszban.⁶ A corneális DC-k legnagyobb részt a bazális epitelium és a szubbazális idegi plexus szintjében helyezkednek el.⁷ Fertőzés, gyulladás vagy trauma következtében a DC-k nagy számban vándorolnak a periféria felől a cornea centruma felé.⁶ Kísérletes modelleken bemutatták, hogy a gyulladás hatással van az epiteliumban található DC-k érésére és fenotípus változására is.⁵

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 beidegzése* leginkább szenzoros, amennyiben a corneát ellátó idegrostok a nervus trigeminus nervus ophthalmicus ágából származnak.⁸ A rostok a periférián, a cornea felszínével párhuzamosan lépnek a szaruhártya állományába, majd a limbustól 1 mm-re elvesztik a myelin borításukat és sok vékonyabb ágra oszlanak. A myelin borítás hiányának a cornea átlátszósága miatt van jelentősége. A stromális idegek többsége a stroma anterior harmadában foglal helyet. A stromában az idegrostok 90°-kal elfordulva a felszín felé haladnak, a Bowman-membránt penetrálják, majd ismét 90°-kal elfordulva a szaruhártya felszínével párhuzamosan futnak tovább a Bowman-membrán és a bazális hámsejtek sora között a szubbazális idegi plexust alkotva.⁹ A szubbazális plexusból az egyes idegrostok függőleges irányba fordulnak, rövid, vékony idegvégződéseket alkotva az epitelsejtek között (1. ábra).¹⁰ A cornea az emberi test egyik leggazdagabban beidegzett szövete, megközelítőleg 7000 szabad, epitelialis idegvégződést tartalmaz négyzetmilliméterenként.⁹ 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.



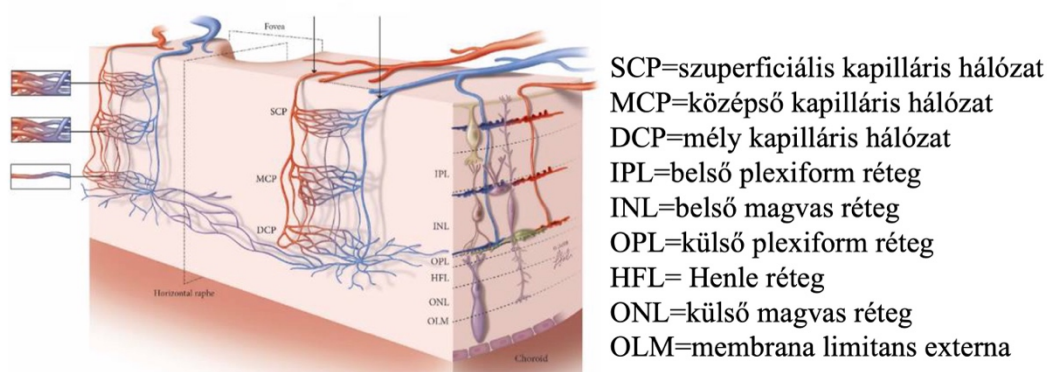
1. ábra. A cornea beidegzése. **(A)** A szaruhártya és a sclera idegei vegyesek (motoros, szenzoros és autonóm) és az V. agyideg 1. osztódásának nasociliaris ágából származnak (Módosítva: Watson PG et al. The sclera and systemic disorders, 2nd edn. Edinburgh, UK: Butterworth Heinemann, 2004.). **(B)** és **(C)** A szaruhártyaidegek eloszlása a stromában, beleértve a szubepitélialis és a szubbazális plexust (Módosítva: Muller LJ et al. Exp Eye Res 2003;76:521-542; Patel DV et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005;46:4485-4488). **(D)** A szubbazális idegkötegek architektúrája (Módosítva: Guthoff RF et al. Cornea 2005;24:608-613.)

A szem vérellátásáért az arteria ophthalmica felelős, amely az arteria carotis internából ered. A *retina* az emberi szervezet legnagyobb metabolikus aktivitással rendelkező szövete, vérellátását két vaszkuláris rendszer biztosítja. Az arteria centralis retinae a belső retina, míg a choriokapillárisok a retinális pigmentepitel (RPE) és a külső retina vérellátásáért felelősek. Az arteria centralis retinae az arteria ophthalmicából ered, majd a nerus opticus mentén halad a szemgolyó felé, a bulbus mögött 1 cm-rel belép a látóideg állományába, majd intraokulárisan négy ágra oszlik.¹¹ A külső retina a choriokapillárisok felől, diffúzió útján táplálkozik. Az érhártya vérellátását úgyszint az arteria ophthalmicából kapja a hosszú és rövid ciliaris arteriolák útján.¹²

A retinában négy vertikális kapilláris hálózat azonosítható.^{13,14} A felszínes kapilláris plexus (SCP) a ganglionsejtek rétegben helyezkedik el és közvetlenül az arteria centralis

szalaieszter_198_24

retinaeből ered. Az SCP alatt két mélyebb kapilláris hálózat helyezkedik el. A belső plexiform és a belső magvas réteg határán a középső kapilláris hálózat (MCP), a belső magvas és a külső plexiform réteg találkozásánál pedig a mély kapilláris plexus (DCP) (2. ábra).^{15,16} Vérellátásukat függőleges anasztomózisokon keresztül az SCP-ből nyerik.^{17,18} A látóidegfő körül található a radiális peripapilláris kapilláris hálózat, azaz a negyedik kapilláris plexus, mely az idegrostrétegben párhuzamosan fut az axonokkal.¹⁹ A foveánál a retina vaszkuláris plexusai gyűrűt alkotva egy érmentes területet határolnak körül, ezt nevezzük foveoláris avaszkuláris zónának (FAZ).¹⁵ Az ideghártyában a FAZ területén a legmagasabb a fotoreceptorok sűrűsége, mivel ez a terület felelős az éleslátásért.²⁰

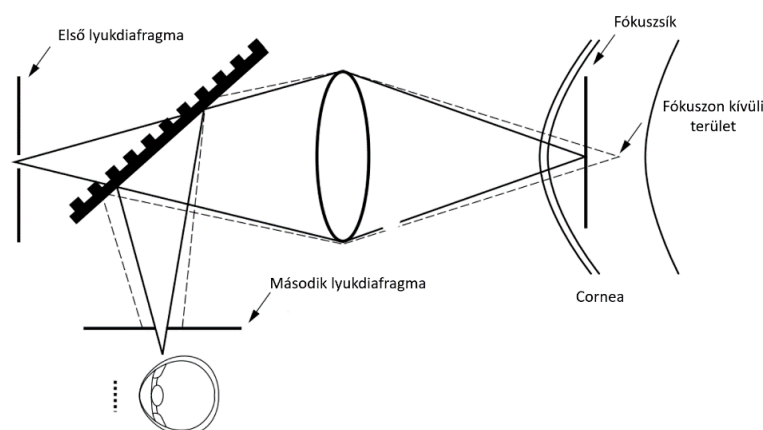


2. ábra. A retina kapilláris hálózatai a parafoveális régióban. (Forrás: Nesper PL, Fawzi AA. Human parafoveal capillary vascular anatomy and connectivity revealed by optical coherence tomography angiography. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018;59:3858-3867.)

Az *uvea* (tunica vasculosa bulbi) nagyfokban vaszkularizált szövet, amelynek stroma rétege pigmentált melanocytákat tartalmaz. Fő feladata a különlegesen oxigénigényes retina külső rétegének tápanyag ellátása. Három fő részre oszthatjuk, az iris, corpus ciliare és chorioidea. Az uvea nevét dús vérellátása és pigmenttartalma révén kapta. Szoros kapcsolat áll fent az uvea és a sclera között a sclerasarkantyú, a vortex vénák kilépési pontja és a nervus opticus körül.²¹

*A vizsgálatainkban alkalmazott képalkotó eljárások ismertetése***In vivo konfokális mikroszkópia**

Az in vivo konfokális mikroszkópiás (IVCM) vizsgálat során az „optikai szeletelés” módszerével a cornea élőben, non-invazív módon vizsgálható, a szaruhártyáról sejtszintű „en face” biomikroszkópos felvételek készíthetők.²² A konfokális mikroszkópia fizikai alapjait Minsky alkotta meg 1957-ben.²³ Hagyományos fénymikroszkóp esetén a kép zajos a fókuszsíkon kívüli struktúrákról visszaverődő és szóródó fénysugarak miatt.²⁴ A konfokális mikroszkóp a fókuszsíkon kívülről érkező sugarakat eliminálja, így a felbontás számottevően javul.²⁵ A konfokális mikroszkópia során a fényforrásból érkező fénysugár egy lyukdiafragmán halad keresztül, majd a mintában fókuszálódik egy objektív lencse segítségével. A mintából visszavert fénysugarak az objektíven keresztül egy detektorrendszeren képződnek le, annak lyukdiafragmáján áthaladva. A beeső és a visszavert fénysugarakat ugyanaz az objektív fókuszálja, ez fogja biztosítani a megvilágítás és a leképezés azonos fókuszsíágát, a konfokálitást (3. ábra).²⁶ A fókuszsík helyzetét változtatva lehetővé válik a különböző mélységben lévő struktúrák vizsgálata.²⁶

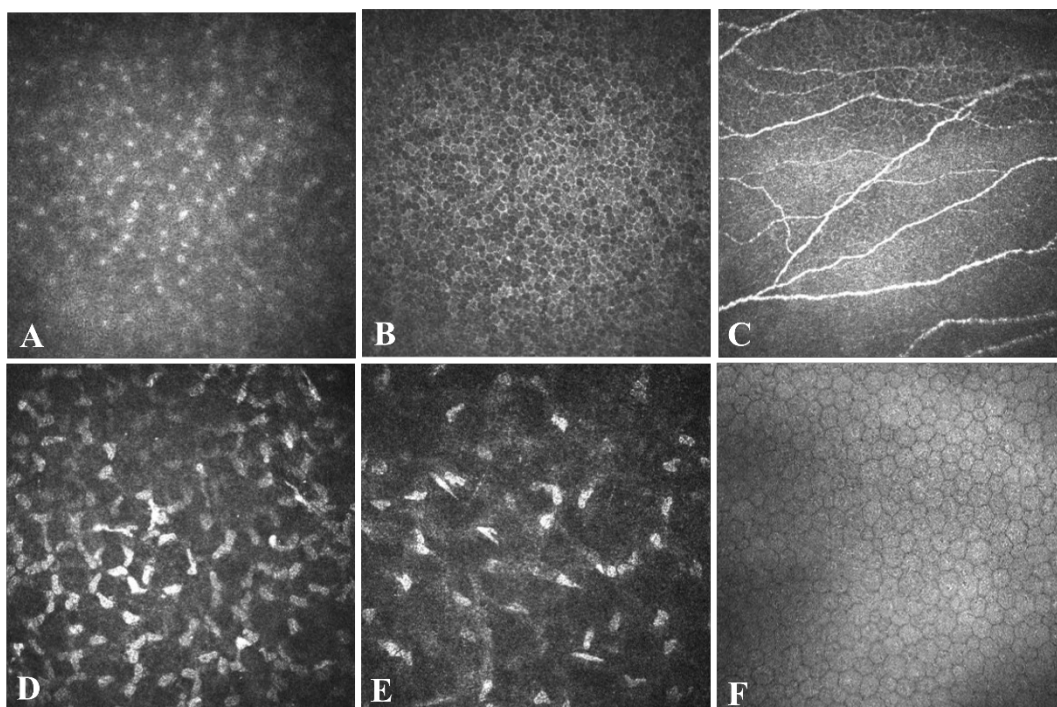


3. ábra. Az IVCM működési elve (Forrás: Jalbert I et al. In vivo confocal microscopy of the human cornea. Br J Ophthalmol. 2003;87:225-326.)

szalaieszter_198_24

Az szaruhártyáról először 1989-ben készült konfokális mikroszkópos felvétel. A konfokális képalkotás a réslámpához képest lényegesen nagyobb optikai felbontóképességet biztosít.²⁷ Működésük alapján az IVCM-ek három típusát különböztetjük meg. A tandem-scanning konfokális mikroszkóp alapja egy forgó korong, melyen spirál alakban helyezkednek el a lyukdiafragmák. A készülék valós idejű (real time) és színű leképezést biztosít, hátránya az igen alacsony fényáteresztő-képesség, így a rossz képminőség.²⁷ A slit-scanning konfokális mikroszkóp esetén a párhuzamos megvilágítás és leképezés megnöveli a szkennelés sebességét, amely azonban a képfelbontás csökkenésével jár.²⁸ A laser-scanning konfokális mikroszkóp koherens fényforrást használ.²⁵ A 2002-ben kifejlesztett Heidelberg-retinatomográf Rostock Cornea Modul (HRT RCM) kereskedelmi forgalomban is lévő laser-scanning mikroszkóp.^{29,30} A készülék alapja a látóidegfő és az ideghártya vizsgálatára kifejlesztett scanning laser ophthalmoscop (SLO), melynek előtét lencséje a Rostock Cornea Modul, ezzel válik láthatóvá a szemfelszín. A HRT RCM rászter mintában pásztázza le a vizsgált területet, az alkalmazott dióda lézer hullámhossza 670 nm. A készülék laterális felbontóképessége 1-2 μm közötti, az axiális felbontóképessége 4 μm körüli.²⁷

Az IVCM felvételeken a szaruhártya felszínes epitelsejt rétegét sokszögletű sejtek, az intermedier epitelsejteket hiperreflektív sejtmagok jellemzik (4. A ábra).²⁵ A bazális epitelsejtek a szaruhártya hám rétegének legkisebb sejtjei, melyek szabályos mozaikként, sötét sejttesttel és világos sejthatárokkal jelennek meg (4. B ábra). A szubbazális idegi plexus (4. C ábra) a Bowman membrán és a bazális epithelium között helyezkedik el, homogén reflektivitású, lináris struktúraként ábrázolódik.²² Az elülső stromális keratocyták jól definiált, világos, kerekded objektumokként láthatóak (4. D ábra). A hátsó stroma keratocyták megnyúltabbak, kevésbé reflektívek, számuk alacsonyabb (4. E ábra). Az endotelsejt réteget szabályos, egy sorban elhelyezkedő hexagonális sejtek alkotják világos sejttesttel és sötét sejthatárokkal (4. F ábra).²²



4. ábra. Az egészséges cornea in vivo konfokális mikroszkópos képe (saját ábra). **A:** Intermediér epitelsejtek **B:** Bazális epitelsejtek **C:** Szubbazális idegi plexus **D:** Elülső stroma **E:** Hátsó stroma **F:** Endotelsejtek

Könnyfilm vizsgáló eljárások

A száraz szem betegség (DED) közepsúlyos és súlyos eseteiben a diagnózis a szubjektív panaszokon és a réslámpás jeleken alapul. Számos *kérdőívet* fejlesztettek ki a betegek száraz szem tüneteinek szubjektív megítélésére annak érdekében, hogy objektívebb és reprodukálhatóbb adatokat kapjunk, amelyek felhasználhatók a száraz szem betegségben szenvedő páciensek felismerésére, kezelésére. Az Ocular Surface Disease Index (OSDI) kérdőívet az Allergan Inc. eredménykutató csoportja hozta létre annak érdekében, hogy felmérje a száraz szem betegségben fellépő szemirritáció tüneteit és azt, hogy ezek hogyan befolyásolják a látással kapcsolatos funkciókat.³¹ Ez a 12 tételből álló kérdőív a száraz szem tüneteit és annak a látással kapcsolatos funkciókra gyakorolt hatását értékeli a páciens elmúlt egyhetes előzményében. Az OSDI jó specificitást (0,83) és mérsékelt érzékenységet (0,60) mutatott a száraz szem betegségben szenvedők és az egészséges személyek

szalaieszter_198_24

megkülönböztetésében.³¹ A *könnymeniszkusz* jellemzőinek (meniszkusz magassága és görbülete) megfigyelése hasznos lehet a könny hiányán alapuló száraz szem forma diagnosztikájában. A *szemhéjszállal párhuzamos kötőhártyaredők* (más néven conjunctivochalasis, LIPCOF) meglétét, illetve súlyosságát ugyancsak réslámpával lehet detektálni. A *Meibom-mirigyek* réslámpás vizsgálata, expressziója a száraz szem diagnosztikájának fontos területe. A *könnytermelés mérése* Schirmer-tesztel (főleg a könny vizes fázisának vizsgálata) történhet helyi érzéstelenítésben (bazális szekréció: Schirmer I.) és anélkül (bazális szekréció: Schirmer I.; reflexes szekréció: Schirmer II. ornyálkahártya stimuláció segítségével). A Schirmer I. teszthez standard filter papírcsíkot helyezünk az alsó kötőhártya-áthajlásba és 5 perc elteltével leolvassuk a nedvesedés mértékét milliméterben (mm). A legelterjedtebben használt határérték a száraz szem szűrésében a ≤ 10 mm nedvesedés 5 perc alatt (érzékenysége 83,6% és fajlagossága 69,8%), a diagnózis megerősítésében pedig ≤ 5 mm nedvesedés 5 perc alatt (érzékenysége 76,9% és fajlagossága 72,4%).³² A *szemfelszín vitális festődése* alkalmas a cornea és conjunctiva epithelium integritásának a vizsgálatára. Egy csepp fluoreszcein oldat szemrésbe cseppentése után az elhalt, károsodott és mucin rétegüket vesztett hámsejtek a réslámpa kobaltkék szűrője alatt sárgán világítanak. A *könnyfilm felszakadási ideje* (BUT) az utolsó pislogás és a szemfelszínen az első száradási folt megjelenése között eltelt idő.^{33,34} A fluoreszceinnel vizsgált felszakadási idő a legelterjedtebben használt módszer a precornealis könnyfilm stabilitásának a mérésére és a fokozott párolgáson alapuló száraz szem típusok elkülönítésére. Réslámpánál az alsó kötőhártya-áthajlásba fluoreszcein csík odaérintését követően, pislogás után a felszakadt könnyfilm mint látható fekete pont jelenik meg kobaltkék szűrő alatt. A 10 másodperc fölötti BUT érték tekinthető normálisnak.^{33,34} Mivel azonban a fluoreszceinnel történő BUT vizsgálat invazív és reflexes könnyezést vált ki, így a non-invazív könnyfilm felszakadási idő (NIBUT) mérése is bevezetésre került, amely az utolsó pislogás és a szemfelszíni spekulár reflex

torzulása között eltelt idő.³⁵ A videokeratoszkópia és a hullámfront aberrometria elfogadott technikák a könnyfilm stabilitás becslésére.³⁶

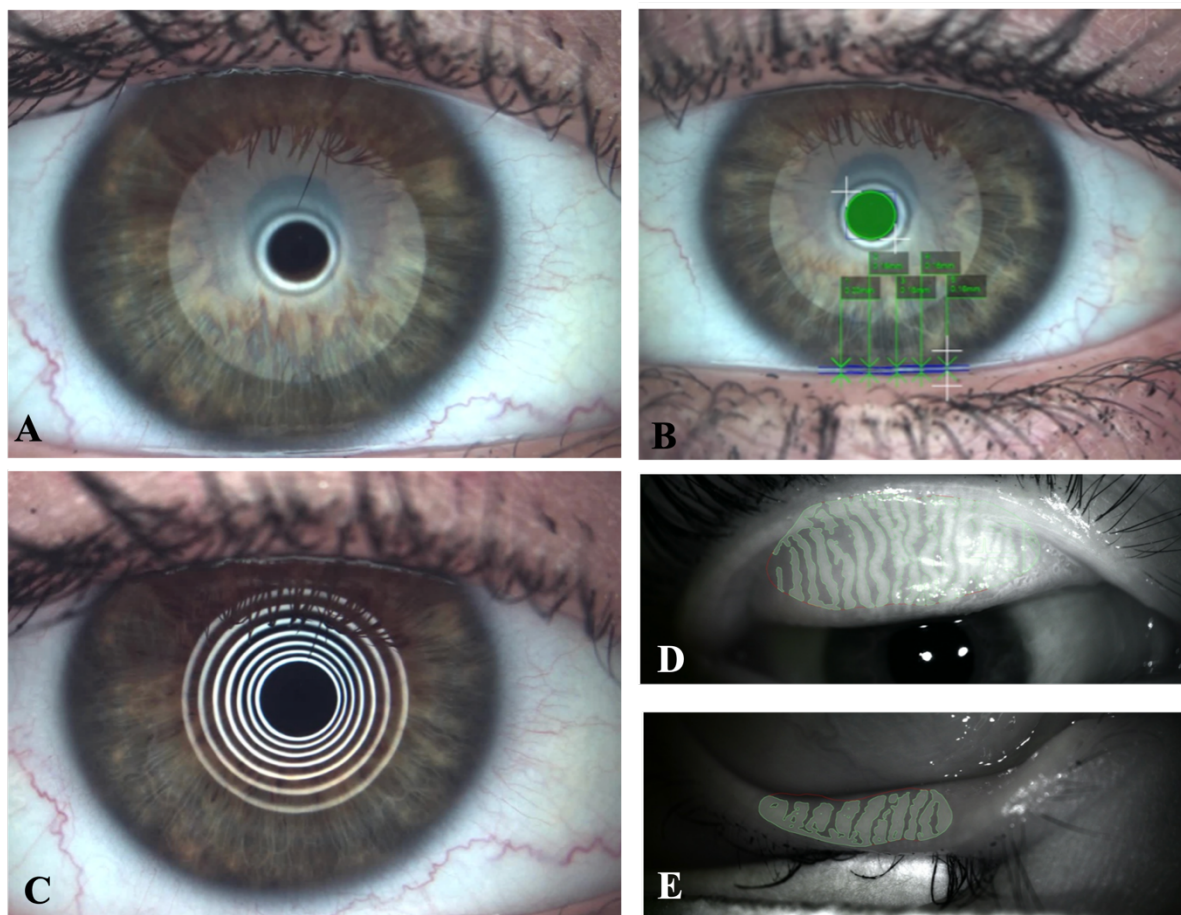
Az emelkedett *könnyfilm ozmolaritás*nak fontos szerepet tulajdonítanak a szemfelszíni gyulladásban és az epitelsejt károsodásban.³⁷ A könnyozmolaritás meghatározása az irodalmi adatok alapján egy megbízható módszer a száraz szem diagnózisában.³⁸ A korábbi, bonyolult laboratóriumi módszerek (fagyáspontcsökkenés-, elektromos vezetőképesség-, illetve gáznyomásmérés) után a nemrég bevezetésre került non-invazív ozmométer 50 nanoliter mintából képes meghatározni a könny ozmolaritását. A gyártó a ≥ 316 mOsm/l értéket javasolja a száraz szem elkülönítésére. Az egyedülálló TearLab ozmométer (TearLab Corporation, San Diego, USA) elektromos impedanciát mér, s az úgynevezett lab-on-a-chip alkalmazások közé tartozik. Ezek bioszenzorokat tartalmazó mikrofluidikai elemeknek, tulajdonképpen egy chip-en integrált komplett mikroanalitikai rendszereknek tekinthetőek. A műszer kézfijét érzéstelenítés nélkül az alsó könnymeniszkus laterális részéhez érintve, a készülék 50 nanoliter könny minta passzív kapilláris effektus révén történő gyűjtése és elemzése után kijelzi a mért értéket mOsm/l mértékegységben.

Számos tanulmány írt le gyenge korrelációt a szubjektív panaszok és az objektív száraz szem tesztek között.³⁹ Ez a különbség a hagyományos vizsgálmódszerek alacsony ismételhetőségének és megbízhatóságának tulajdonítható. Újabb közlemények azonban szignifikáns összefüggést találtak az emelkedett könnyozmolaritás és a száraz szem súlyossága között, amely az ozmolaritásmérés jelentőségét támasztja alá a kórisme felállításában.⁴⁰ A standard tesztek továbbá, csupán egy-egy etiopatogenetikai csoportra specifikusak, amennyiben a Schirmer-teszt a vizes fázis termelődését becsli, a megváltozott Meibom-mirigy státusz pedig az evaporatív száraz szem típusra jellegzetes. A könnyfilm hyperozmolaritása mind a könnyhiányon, mind a fokozott párolgáson alapuló betegség csoportokban a fő kóroki tényezőként szerepel. Amíg a Schirmer-teszt, könnyfilm felszakadási idő és a szemfelszín

festődése az enyhe és közepes súlyos száraz szem betegség diagnosztikájában gyenge hatékonysággal bír, addig a könnyozmolaritás lineáris összefüggést mutat a betegség súlyosságával.⁴⁰

A szintén újdonságnak számító *LacryDiag* (Quantel Medical, Franciaország) készülék több típusú non-kontakt vizsgálattal képes diagnosztizálni a száraz szem betegséget, ahogyan az alsó könnymeniszkusz magasságának (LTMH), a felső (MeibS) és alsó (MeibI) szemhéj meibográfiájának, a könnyinterferometriának (INT) és a nem invazív könnyfilm felszakadási időnek a mérésével (5. ábra).⁴¹ A könnymeniszkusz magasságának mérése a vizes fázis mennyiségi értékelését teszi lehetővé. A könny nagy része a meniszkuszon belül található, ez a felső és alsó szemhéjnak a bulbáris kötőhártyával találkozó peremrésze. A könnymeniszkusz kvantifikálásával becsülhetjük a könnyfilm mennyiségét. A *LacryDiag* készülék az LTMH mérését félautomatikusan végzi a megfigyelő által a könnytócsára helyezett két kaliper segítségével. Az elemzéshez öt mérés átlagát használjuk. A meibográfia során a szemhéj belső felszínén lévő mirigyek sziluettjét vizualizáljuk egy adott területen és elemezzük a Meibom-mirigyek elvesztésének százalékos arányát. A technika a kifordított szemhéjak fehérfényes átvilágításán alapul. Ennél a félautomata módszernél a mérési területet a vizsgáló rajzolja ki, a Meibom-mirigyek elvesztésének területét pedig a készülék adja meg. A könnyinterferometria a lipidrteg minőségi és mennyiségi elemzése. Ezzel a módszerrel a víz felszínén vékony rétegben elterülő olajos fázis mutatható ki. Az olajos fázis visszaverődési mintázata és kinetikája alapján a lipidrteg vastagsága értékelhető. Az interferometriát a készülék úgy méri, hogy az adott páciens videofelvételét összeveti egy osztályozási skálával. A NIBUT a könnyfilm stabilitását a párolgás mértékével határozza meg. Ez a módszer egy megvilágított rácsmintázat könnyfilmről történő visszaverődésének megfigyelésén alapul. Munkacsoportunk korábban vizsgálta és publikálta e modern könnyfilm-képalkotó eszköz megbízhatóságát és

klínikai alkalmazhatóságát, valamint mérési eredményeit összehasonlítottuk a hagyományos referenciamódszerekkel.⁴¹

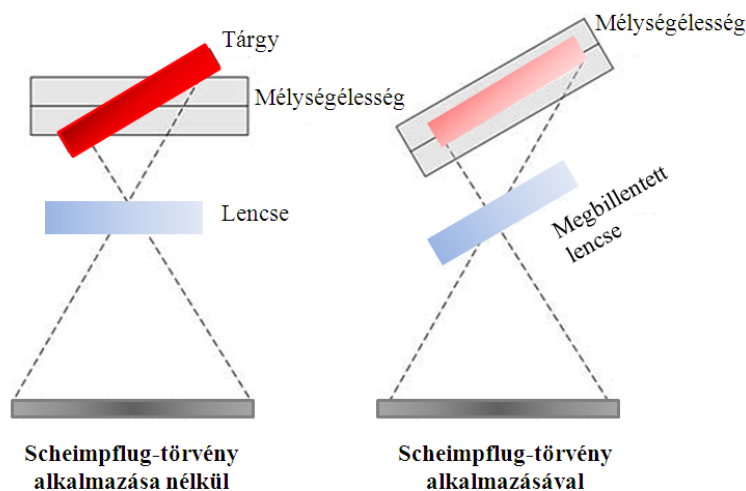


5. ábra. Interferometria (A), alsó könnymeniszkusz magassága (B), nem invazív könnyfilm felszakadási idő (C), a felső (D) és alsó meibográfia (E) LacryDiag készülékkel (saját ábra).

Pentacam High Resolution (HR)

A Pentacam a Scheimpflug-törvény (Theodor Scheimpflug, 1904 és Jules Carpentier, 1901) felhasználásával alkot képet, amely szerint a tárgy síkja, a film síkja és az objektív síkja nem párhuzamosak, azaz szöget zárnak be egymással, így azok egy közös egyenesben metszik egymást. Ennek eredményeképpen keletkezik éles tomogram (rétegfelvétel) a teljes elülső szegmentumról, a cornea elülső felszínétől a lencse hátulsó felszínéig (6. ábra). A 475 nm monokromatikus, UV-mentes kék fény segítségével a nagy felbontású kamera 25, 50 vagy 100

ilyen, úgynevezett Scheimpflug-képet rögzít 2 másodperc alatt azáltal, hogy 360° -os szögben körbefordul a szem optikai tengelye körül.



6. ábra. A Scheimpflug-törvény bemutatása a szem elülső szegmentumának képképzésében. A lencse megbillentésével a mélységélesség a végtelenre nő (Forrás: davidclapp.co.uk).

A Pentacam készülékek korábbi változatai (Pentacam Basic és Classic) maximálisan 50 felvétel elkészítésére alkalmasak 500 mérőpont alkalmazásával (összesen 25 000 elevációs pont). Több mint 138 000 valódi elevációs pont mérését követően a magas felbontású Scheimpflug-kamera saját szoftvere segítségével elkészíti és kijelzi az elülső és hátsó szaruhártyafelszín axiális és tangenciális görbületi, valamint elevációs térképét, megméri a teljes cornea vastagságát annak minden pontján, megjeleníti az elülső szegmentum háromdimenziós, forgatható modelljét, valamint adatokat szolgáltat az elülső csarnokról, illetve speciális képelemző programokkal rendelkezik.⁴² A nagy felbontás segítségével jóval élesebb és részletgazdagabb tomogramok készülnek, így vizualizálhatóak a cornea rétegei, az elülső csarnok struktúrái, illetve a szemlencse. Továbbá precízebb számítások válnak lehetővé a magas képfelbontás és a corneális felszínnek pontosabb detektálása által.

Az optikai koherencia tomográfia (OCT)

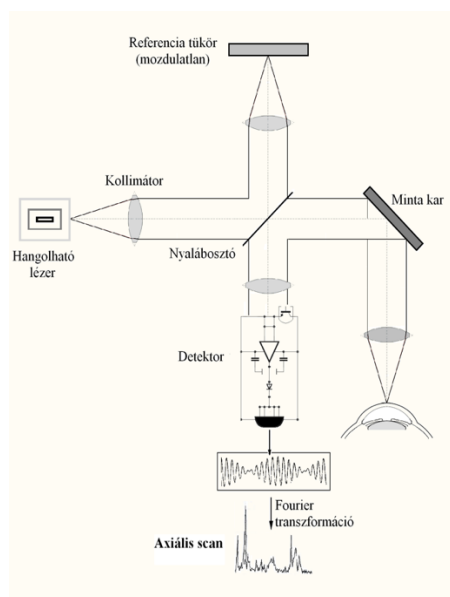
Az optikai koherencia tomográfia nem invazív, nagy felbontású képalkotó modalitás, amely a pásztázott mintából érkező és egy referencia jel közötti interferencián alapul és valós idejű képet hoz létre.⁴³ A vizsgálat non-kontakt, azaz direkt kontaktusra vagy közvetítő közegre nincs szükség. Klinikai alkalmazásáról 1991-ben Huang és munkatársai számoltak be először.⁴³ A technológiát optikai biopszia néven is emlegetik, mivel a szövetek eltávolítása nélkül nagy felbontású (1-15 μm) felvételt szolgáltat.^{44,45} Működési elve hasonlít az ultrahangéhoz, azzal a különbséggel, hogy fényt alkalmaz akusztikus hullám helyett.^{44,45} A közel infravörös fény a hanghullámmal összehasonlítva rövidebb hullámhosszúságú, kisebb a szöveti penetranciája, viszont nagyobb felbontású képet hoz létre. A szemészetben vizsgált struktúrák mérete és felszíni közelsége miatt az alacsonyabb mértékű szöveti áthatolás úgyszemint releváns.⁴⁶

Az OCT vizsgálat során keresztmetszeti kép, tomogram jön létre a minta fénysugárral történő pásztázása, valamint a visszaverődési idő késésnek és intenzitásának mérése kapcsán. Mivel a fény nagy sebességgel halad, a visszavert fény közvetlenül nem kvantifikálható. Az OCT működése az alacsony koherenciájú interferometria elvén alapul, a visszaverődő fény interferál egy referencia fénysugárral.⁴⁵ Az interferencia két vagy több hullám szuperpozíciója, amelynek eredménye egy új hullámmintázat. Az OCT leképezés a Michelson-féle interferométer segítségével történik.⁴³ A szuperlumineszcens dióda lézerből származó fénynyaláb megvilágítja a fénysugár elosztót, majd kettéválva folytatja az útját. Az egyik fénysugár a leképezendő szövetre, a másik a referencia oldalra vetül. A mintáról visszaverődő fény interferál a referencia karral, majd egy fotodetektor érzékeli az interferométer kimenetelénél. A mintáról visszaverődő fény késése és a visszavert fény intenzitása mérhető az interferencia kimenet érzékelésével. Az adatok logaritmikus szürke skálán vagy hamis színskálán ábrázolhatók.^{43,44} Az OCT által létrehozott kétdimenziós, keresztmetszeti B-módú

képek egydimenziós, longitudinális A-módú leképezések sorozatából állnak, amelyet a szövetek optikai denzitása határozza meg.

Az első generációs OCT készülékek a time-domain OCT-k (TD-OCT) voltak, melyek alapját egy fényforrás és egy mozgó referencia tükör adta.⁴⁷ Az újabb generációs, gyorsabb és nagyobb felbontású OCT-k megjelenésével a TD-OCT-k kiszorultak a mindennapi klinikai gyakorlatból. A második generációs OCT-k a Fourier-transzformáció elvén működő spectral-domain (SD) OCT-k, melyek minden visszaverődő fényhullámot szimultán érzékelnek. A mozgó referencia tükör eliminálásával az A-szkennek száma jelentősen megnő, ami gyorsabb képalkotást és nagyobb felbontóképességet eredményez.⁴⁷ Az SD-OCT-k axiális felbontóképessége 4-6 μm , míg a TD-OCT-ké 10 μm volt.⁴⁷ Az SD-OCT továbbfejlesztett változata az „enhanced-depth imaging” (EDI) OCT, mely 500-800 μm -rel mélyebb penetrációt tesz lehetővé, így a chorioidea vizsgálatára is alkalmas.⁴⁸

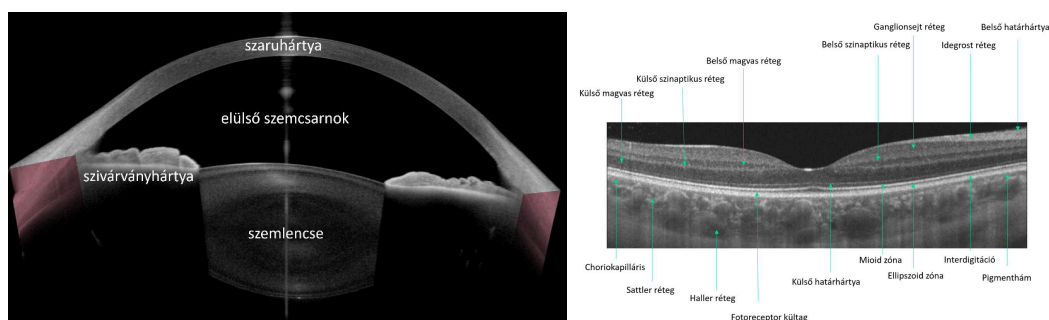
Jelenleg a legmodernebb elérhető OCT berendezések a szintén Fourier domain OCT rendszerű swept-source OCT-k (SS-OCT). A SS-OCT esetén egy adott hullámhosszúságú lézer nyaláb rendezett módon „söpör” végig a vizsgált szöveteken. A visszaverődő fény és a referencia kar interferenciája olyan jelet eredményez, amely csaknem valós időben detektálható (7. ábra).⁴⁹ Az SS-OCT-nél alkalmazott fényforrás az SD-OCT-hez képest komplexebb, a detektor viszont egyszerűbb. A hosszabb hullámhossztartomány miatt mélyebb szöveti penetráció érhető el, ennek köszönhetően a vitreoretinális határfelszín és az érhártya is leképezhető. A SS-OCT az előző generációs készülékekhez képest nagyobb sebességgel működik, másodpercenként 100 000 - 400 000 axiális szkent hoz létre, axiális felbontóképessége 8 μm . A készülék alkalmas az elülső és a hátsó szegmentum nagy felbontású, gyors, biztonságos leképezésére.⁴⁹



7. ábra. A Fourier domain OCT működésének egyszerűsített sémás rajza. (Forrás: Szalai E et al. Új képalkotó módszer az elülső szegmentum vizsgálatában: Fourier-domain OCT. Szemészet 2011; 148:65-72.)

Az elülső szegmentum SS-OCT

Az OCT technológiát eredetileg a hátsó szegmentum leképezésére vezették be, azonban a technika tovább fejlődésével alkalmassá vált a szemfelszín és az elülső szegmentum megfigyelésére is. A magas hullámhosszúságú fény és a swept-source technológia kombinációja lehetővé teszi az elülső szegmentum, mint a szaruhártya, az elülső csarnok, az írisz és a szemlencse vizsgálatát (8. ábra), valamint a szem tengelyhosszának lemérését is. Számos szemészetben fontos paraméter elemzését teszi lehetővé a kapott eredmények, mint a szaruhártya topográfia és tomográfia, az elülső szegmentum elemzése és a biometria.⁴⁹⁻⁵²



8. ábra. Ép elülső szegmentum és az ép macula SS-OCT képe (Dr. Kölkedi Zsófia saját ábrája).

A hátsó szegmentum SS-OCT

A hátsó szegmentum OCT szövettani felvételhez mérhető felbontású képalkotásra képes a retináról és a látóidegfőről, megjelenése mérföldkőnek számít a szemészeti diagnosztikában (8. ábra). A SS-OCT nagyobb hullámhosszúságú fénysugárral dolgozik (1040-1060 nm), mint az SD-OCT (840 nm), így a törőközegei borúságokban kisebb az elnyelődés, szóródás, valamint nagyobb a szöveti penetráció.⁵³ A SS-OCT alkalmas az üvegtest, az ideghártya és az érhártya egyidejű vizsgálatára. A nagyobb szkennelés sebesség miatt a műtermékek száma alacsonyabb.⁵⁴

Az optikai koherencia tomográfia angiográfia (OCTA)

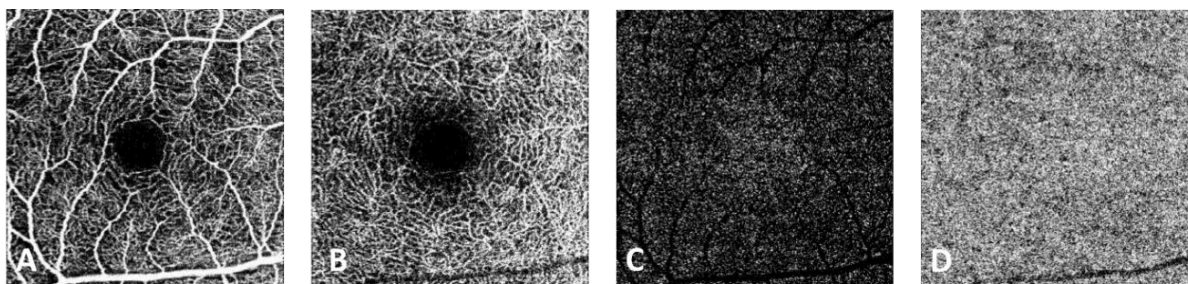
Az OCT angiográfia az egyetlen jelenleg elérhető vizsgálati eljárás, amely a retina kapilláris hálózatának és a choriokapillárisok non-invazív megjelenítésére alkalmas, az OCT szoftveres továbbfejlesztésének az eredménye. Az OCTA a mozgáskontraszt elvén működik, egy adott területről több B-módú OCT felvétel készül időben egymást követően. Mivel a retinában csak a vörösvértestek mozdulnak el, így a reflektivitás időbeli változásának detektálásával az erek megjeleníthetők.⁵⁵ Az egyes képek közötti változás elemzésével az áramlás detektálható, amelyre több modalitás került kifejlesztésre. A Fourier transzformációt követően az OCT szignál amplitúdó és fázis információt tartalmaz. Az OCT jel feldolgozása alapján 3 fő OCTA típust különböztetünk meg: amplitúdó-jel alapú, fázis-jel alapú és komplex-jel alapú OCTA-t.⁵⁶

Az OCTA megjelenése előtt a retina és a chorioidea ereinek vizsgálatára az invazív fluoreszcein (FLAG) és indocianin zöld angiográfia (ICG) állt rendelkezésre, amelyekkel intravénás kontrasztanyag beadását követően a véráramlás dinamikus, kétdimenziós ábrázolására volt módunk.⁵⁵ Az OCTA legnagyobb előnye ezen vizsgálatokkal szemben, hogy gyors és ismételhető módon, festék beadása nélkül jön létre a képalkotás, így elkerülhető az esetleges szövődmény. Az OCT angiográfia további előnye, hogy az egyes kapilláris hálózatok

külön-külön is vizsgálhatók, az „en face” felvételeken a membrana limitans internától (ILM) a choriokapillárisig külön követhetők az érhálózatok.⁵⁵ Az OCTA hátránya, hogy a dinamikus változások, mint a szivárgás és a festődés nem jeleníthetők meg, valamint nem képes ábrázolni a lassú vérátáramlású területeket, így a mikroaneurizmák jó része nem detektálható a képeken.⁵⁷ Túl lassú vagy turbulens áramlás esetén nem jön létre dekorrelációs jel. A véráramlás ábrázolását nagymértékben meghatározza az egyes felvételek között eltelt idő, hosszú interszken idő esetén a lelassult áramlás is detektálható.⁵⁸

Az OCTA készülékek a struktúrák szegmentálásához anatómiai referencia síkokat alkalmaznak, mint például az ILM és a Bruch-membrán.⁵⁹ A jelenleg elérhető OCTA készülékek többsége az alábbi négy rétegről nyújt információt:

- felszínes kapilláris hálózat (9. A ábra): a ganglionsejt rétegben található kapilláris hálózat (SCP)
- mély kapilláris hálózat (9. B ábra): a belső plexiform réteg külső határa és a külső plexiform réteg középpontja közötti terület (MCP+DCP)
- külső retina (9. C ábra): érmentes terület
- choriokapilláris (9. D ábra): az RPE alatti terület



9. ábra. Egészséges macula OCT angiográfiai képe (saját ábra). A: Felszínes kapilláris hálózat, B: Mély kapilláris hálózat, C: Külső retina, D: Choriokapilláris

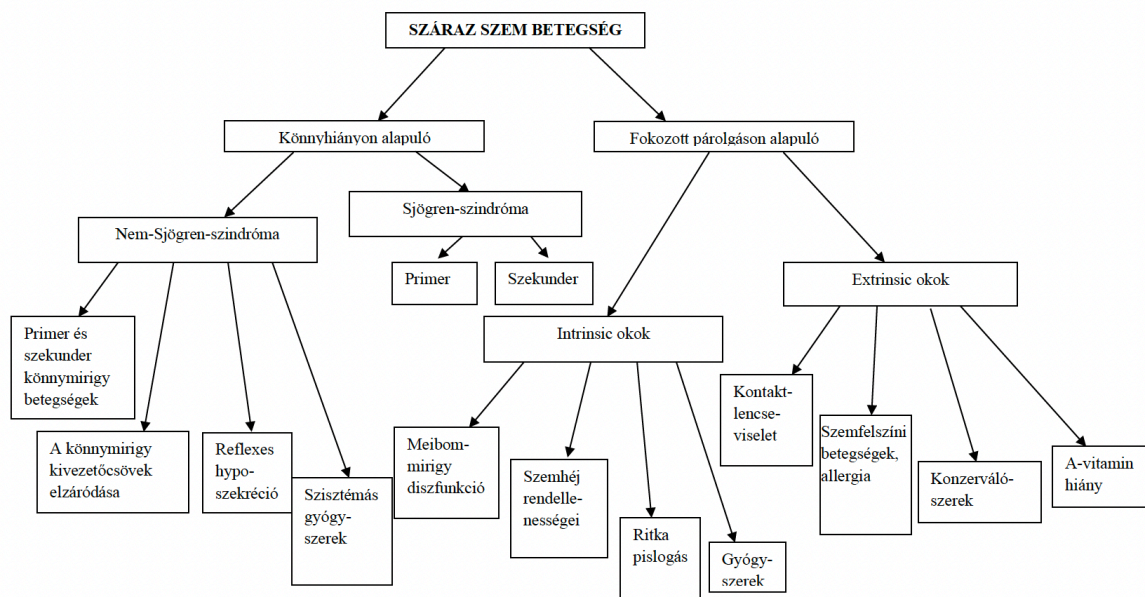
Szisztémás betegségek szemészeti vonatkozásai

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.⁶⁰ Egy átfogó szemészeti vizsgálat során tehát a fundus kis ereinek megfigyelésén túl képesek vagyunk a látóidegen keresztül a központi idegrendszerről és a cornealis idegeken keresztül a perifériás idegrendszer állapotáról kvalitatív és kvantitatív információkat nyerni.

Száraz szem betegség

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.³⁷

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 (1. táblázat).³⁷



1. táblázat. A száraz szem betegség etiopatogenetikai csoportosítása. (Forrás: Módis L, Szalai E, Berta A. A száraz szem betegség diagnózisa és kezelése. Orvostovábbképző Szemle 2013; 6:11-19.)

A könny hiányán alapuló száraz szem

A könny hiányán alapuló száraz szem betegség tovább osztható Sjögren-szindróma és nem-Sjögren-szindróma csoportokra.³⁷ Az utóbbi száraz szem formának lehetnek primer okai, mint a könnymirigy hiánya, illetve a könnymirigy károsodása vagy diszfunkciója. A nem-Sjögren-szindróma száraz szem betegség azonban másodlagosan is kialakulhat számos kórkép következtében.

A Sjögren-szindrómához kapcsolódó száraz szem a könnymirigy autoimmun gyulladásával jellemezhető. A primer Sjögren-szindróma keratoconjunctivitis sicca, xerostomia és más glanduláris és extraglanduláris tüneteket foglal magába. A szekunder Sjögren-szindróma egyéb szisztémás autoimmun betegségekkel együtt fordul elő, mint rheumatoid arthritis, szisztémás lupus erithematosus, Wegener-granulomatosis, scleroderma, polymyositis, dermatomyositis, polyarthritis, Hashimoto-thyreoiditis és Raynaud-szindróma.

A könny fokozott párolgásán alapuló száraz szem

A fokozott könnyvesztésen alapuló száraz szem a könny megnövekedett párolgásának, ezáltal instabil könnyfilm kialakulásának a következménye, amely forma a következő száraz szem típusokat foglalja magába:

1. megváltozott könny összetétel (a lipid összetevők hiánya, elsődleges forma: mirigyek hiánya; másodlagos forma: blepharitis, Meibom-mirigy diszfunkció, MGD),
2. szemhéjszél rendellenességei,
3. csökkent pislogási gyakoriság vagy inkomplett pislogás (pl. irodai dolgozó, Parkinson-kór, schizophrenia),
4. szemfelszíni egyenetlenségek,
5. kontaktlencse-viselés.

Tekintettel arra, hogy az obstruktív MGD az evaporatív száraz szem betegség leggyakoribb oka és az MGD prevalenciája 30,5-71,7% között van,⁶¹ ezzel az etiopatogenetikai alcsoporttal gyakrabban találkozunk a mindennapi gyakorlatban, mint a könnyhiányon alapuló formával.⁶² A MGD azonban Sjögren-szindrómával is társulhat, jelezve a két alcsoport kevert előfordulását.⁶³

Diabétesz mellitusz

A diabétesz mellitusznak (DM) két fő típusa ismert: az 1-es típusú (T1DM) és a 2-es típusú (T2DM) cukorbetegség. T1DM esetén a pancreas β -sejtjeinek károsodása miatt abszolút inzulinhiány jön létre. A T2DM betegséget inzulinrezisztencia, relatív inzulinhiány és/vagy kóros inzulinszekréció, valamint magasabb vércukorszint jellemzi. A T2DM a gyakoribb típus, a betegek közel 90-95%-át érinti.^{64,65} A Nemzetközi Diabétesz Szövetség (International Diabetes Federation) adatai alapján 2021-ben a világon 537 millió, Európában 67 millió cukorbeteg felnőtt élt.⁶⁶

szalaieszter_198_24

A cukorbetegségnek ismertek makrovaszkuláris és mikrovaszkuláris szövődményei. Az érlelmeszesedés talaján kialakuló makrovaszkuláris komplikációk, mint a miokardiális infarktusz, a stroke és a perifériás artériás megbetegedések, T2DM-ben a vezető halálokok közé tartoznak. A mikrovaszkuláris szövődmények jól ismert triász a nefropátia, a neuropátia és a retinopátia. Az emelkedett vércukorszint által okozott endotel diszfunkció mind a makro-, mind pedig a mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásában kulcsszerepet játszik. A perifériás neuropátia, a retinopátia és a nefropátia T1DM és T2DM esetén is jelentkezik, csak úgy mint prediabétesz és metabolikus szindróma esetén.^{67,68} Az „UK Prospective Diabetes Study” (UKPDS) és más populáció alapú vizsgálatok szerint a szigorú glikémiás kontroll és a megfelelő kardiovaszkuláris állapot csökkentheti a DM-hez kapcsolódó komplikációk, mint a retinopátia és a neuropátia kialakulásának esélyét és hozzájárul a további morbiditás és mortalitás prevenciójához.⁶⁹

A DM mindkét típusa a szem minden szövetét károsíthatja, a betegség következtében kialakulhat korai cataracta, retinopátia, neovaszkuláris glaukóma, optikus neuropátia, diabéteszes papillopátia, szemmozgászavar, keratopátia és DED is.⁷⁰ A vékonyrost neuropátia és a retinopátia a diabétesz hosszútávú mikrovaszkuláris szövődményei közé tartoznak. A diabéteszes retinopátia (DR) a DM leggyakoribb szemészeti szövődménye, társadalmunkban a vakság vezető okai közé tartozik. A 40 év feletti diabéteszes betegek között a retinopátia becsült prevalenciája 34,6%, ez világszerte 93 millió embert jelent.⁷¹ Az UKPDS adatai alapján a T2DM-es betegek több mint 40%-ánál már a diagnózis felállításakor jelen van valamilyen fokú diabéteszes retinopátia, T1DM esetén a DR későbbi és akutabb komplikáció.⁷² A DR kialakulásnak szempontjából a legfontosabb rizikófaktor a betegség fennállási időtartama. T1DM esetén 5 év után 25%, 10 év után 60%, míg 15 év után 80% a DR kialakulásának az esélye.^{73,74} A befolyásolható rizikófaktorok közül a vércukorszintnek és a vérnyomásnak van a legnagyobb jelentősége.⁷⁵ Bár a DR-t alapvetően a retina mikrovaszkuláris károsodásának

tartjuk, számos tanulmány utal arra, hogy a retina neurovaszkuláris megbetegedéséről van szó. Retinális neurodegeneráció, gliózis és neuroinflammációs folyamatok azonosíthatók a ideghártyában még a vaszkuláris rendszer károsodása előtt.⁷⁶

A retinopátia jelenléte magasabb kockázatot jelent a szisztémás érrendszeri katasztrófák szempontjából is. A szemészeti vizsgálat során talált eltérések nem csak a szemgolyó, hanem az egész szervezet állapotára következtetni engednek. A retinális mikrovaszkuláris károsodás szoros összefüggést mutat a diabéteszes polineuropátia súlyosságával.⁷⁷ A diabéteszes corneális neuropátia oka a tartós hiperglikémia okozta nervus trigeminus érintettség, mely a szaruhártya beidegzésének károsodását eredményezi.⁷⁸

Korábbi vizsgálatunkban károsodott corneális szubbazális idegi plexus morfológiát írtunk le fiatal T1DM betegekben retinopátia és mikroalbuminuria nélkül. Szignifikáns összefüggést találtunk a cornea idegi elváltozásai és a diabéteszes retinopátia fennállása és súlyossága között. Következtetésünk alapján a korai corneális sejtes és idegrost morfológiai eltérések fiatal T1DM-ben szenvedő betegek esetén már a retinopátia megjelenése előtt detektálhatók.⁷⁹ Az irodalomban elsőként végeztük serdülőkorú T1DM betegek longitudinális követéses vizsgálatát, amely a 2 év alatt retrográd neurodegeneráció folyamatát állapította meg a szaruhártya idegi plexusában.⁸⁰

A COVID-19 betegség

A koronavírusok ribonukleinsav (RNS) vírusok, melyek a Coronaviridae család egyik alcsaládjához tartoznak, amely további négy csoportra oszlik: alfa-, béta-, gamma- és deltakoronavírusok.⁸¹ 2019. decemberben a kínai Wuhanban megszorodtak az ismeretlen eredetű pneumoniás esetek, a mintákból egy addig ismeretlen bétakoronavírus került izolálásra. A vírust súlyos akut légzőszervi szindrómát okozó koronavírus 2-nek (SARS-CoV-2), az általa okozott betegséget koronavírus betegség 2019-nek (COVID-19) nevezték el.⁸² Az

Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2020. március 11-én kihirdette a COVID-19 pandémiát.⁸³

A SARS-CoV-2 által okozott betegség a tünetek széles spektrumát okozhatja, az enyhe megfázástól kezdve egészen a súlyos légzési elégtelenségig és a halálig.⁸⁴ A hospitalizációt igénylő betegek harmada számol be perzisztáló, COVID-19 betegséghez kapcsolódó panaszokról, a betegek felénél pedig a kórházból történő hazabocsajtást követően is hosszan fennállnak a tünetek.⁸⁵ A fertőzés alatt a betegek csaknem 90%-a beszámol legalább egy neurológiai tünetről.⁸⁶ Az idegrendszeri érintettség eredete lehet a központi vagy a perifériás idegrendszer direkt károsodása, a vírus antigén hatása által keltett szekunder gyulladásos válasz eredménye, valamint a fokozott véralvadás és az endotel diszfunkció.⁸⁷ A súlyos központi idegrendszeri történések mellett kardiovaszkuláris katasztrófák is előfordulhatnak, mint miokarditisz, szívinfarktus, vénás tromboembólia és szívelégtelenség.⁸⁸ A SARS-CoV-2 megtámadja az endotel sejteket, így mind az artériás, mind pedig a vénás oldalon mikro- és makrovaszkuláris komplikációkat okozhat.⁸⁹ A fertőzés által keltett citokin vihar endotel károsító hatása a koagulációs kaskád aktivációjához, tromboembóliás szövődmények és disszeminált intravaszkuláris koagulopátia kialakulásához vezethet.⁹⁰

Ismert, hogy a COVID-19 megbetegedésnek számos szemészeti komplikációja is lehet.^{91,92} A szemészeti tünetek megjelenhetnek a fertőzés alatt és azt követően is.⁹³ A szemfelszín környezeti hatások és infektív ágensek számára jelentős mértékben kitett terület. A könnyfilmnek szerepet tulajdoníthatunk a vírus replikációban SARS-CoV-2 fertőzés esetén,⁹⁴ az infekcióhoz kapcsolódóan számos szemfelszíni megbetegedést közöltek.⁹⁵

Szisztémás szklerózis

A szisztémás szklerózis vagy szkleroderma (SSc) egy komplex, krónikus, ismeretlen eredetű autoimmun betegség. A kötőszöveti betegségek közé sorolják. A bőr és az ízületek

mellett több zsigeri szervet is érinthet.⁹⁶ Az SSc klinikai és patológiai jellemzői három különálló folyamat következményei: (1) generalizált kiser-vaszkulopátia, (2) mind a veleszületett, mind az adaptív immunrendszer diszregulációja és (3) a fibroblaszt-szintézis diszfunkciója.⁹⁷

Az SSc több szervet érintő betegség, a manifesztációk széles skáláját mutatja, beleértve a szem szöveteit is. Annak ellenére, hogy ritkán és nem elsősorban a látószervet érinti, a szem érintettsége SSc-ben gyakori és magában foglalja a szemhéjak bőrének, a szemgolyó elülső és hátsó szegmentumának és a szemüregnek az elváltozásait.⁹⁸ Ezek egy része közismerten szorosan összefügg az alapbetegséggel, a többi megjelenése azonban véletlenszerű.⁹⁹⁻¹⁰¹ Mivel az SSc korai stádiumában az okuláris szövődmények gyakran enyhék és háttérbe szorulnak a bőr és a belső szervek manifesztációi mögött, a szemészeti eltérések jellemzően észrevétlenek maradnak vagy csak a betegség késői fázisában kerülnek felismerésre.

Amellett, hogy a szaruhártya különböző paraméterei - beleértve a görbületet, a pachymetriás adatokat és a szaruhártya térfogatát - megváltozhatnak,¹⁰² és a betegség során látást veszélyeztető szövődmények is kialakulhatnak,¹⁰³ az SSc-ben a szaruhártya eltérések leírása alulreprezentált az irodalomban. Továbbá a szaruhártya meghatározott morfológiai és immunológiai tulajdonságokkal rendelkezik, beleértve a DC-k előfordulását, a kötőhártya és az episclerális réteg környéki erek szomszédságát, a különböző nagy molekulatömegű molekulák és immunkomplex lerakódások, mint például az immunglobulin M (IgM) és a komplement C1 gazdag tartalmát, amely mind fogékonnyá teszi az immunológiai betegségekre.¹⁰⁴

Migrén

A migrén egy gyakori, rokkantságot okozó elsődleges fejfájás, amely lüktető fájdalommal jár, általában a fej egyik oldalán. Gyakori kísérő tünetei a hányinger, hányás,

fotofóbia és fonofóbia.¹⁰⁵ A világ népességének körülbelül 16%-át érinti a migrénes fejfájás és e betegek közel 30%-ánál neurológiai tünetek jelentkeznek, amelyek egy átmeneti agykérgi működési zavarhoz köthetők és aura néven ismertek.¹⁰⁶ A Global Burden of Disease Study szerint a migrén a második leggyakoribb neurológiai betegség világszerte és nagyobb arányú fogyatékosáért felelős, mint az összes többi neurológiai betegség együttvéve.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

A migrénes roham fejfájási fázisát feltehetően az agyhártyák és az intrakraniális erek nociceptorainak aktivációja váltja ki.¹¹⁰ A nociceptorok a ganglion trigeminalisból erednek és elsősorban a nervus trigeminalis V1 ágán keresztül jutnak a dura materbe.¹¹¹ 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.^{112,113} A legújabb funkcionális mágneses rezonancia képalkotó (MRI) vizsgálatok megerősítik a perifériás és központi trigeminális rendszer aktiválódását migrénben.¹¹⁴ A trigeminovaszkuláris pálya ismétlődő aktivációja következményes strukturális és funkcionális változásokhoz vezet a genetikailag fogékony egyének központi idegrendszerében.¹¹³ A perifériás trigeminalis afferens idegeket érintő rendellenességekről is egyre több bizonyíték áll rendelkezésre embereken in vivo.¹¹⁵ A trigeminális ideg látja el a szaruhártya alatti bazális idegplexust, amely elsősorban az érintés-érzékelésért, a fájdalomért és a könnyfilm integritásáért felelős.

Uvea melanoma

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.¹¹⁶ A kromoszóma státusz és a

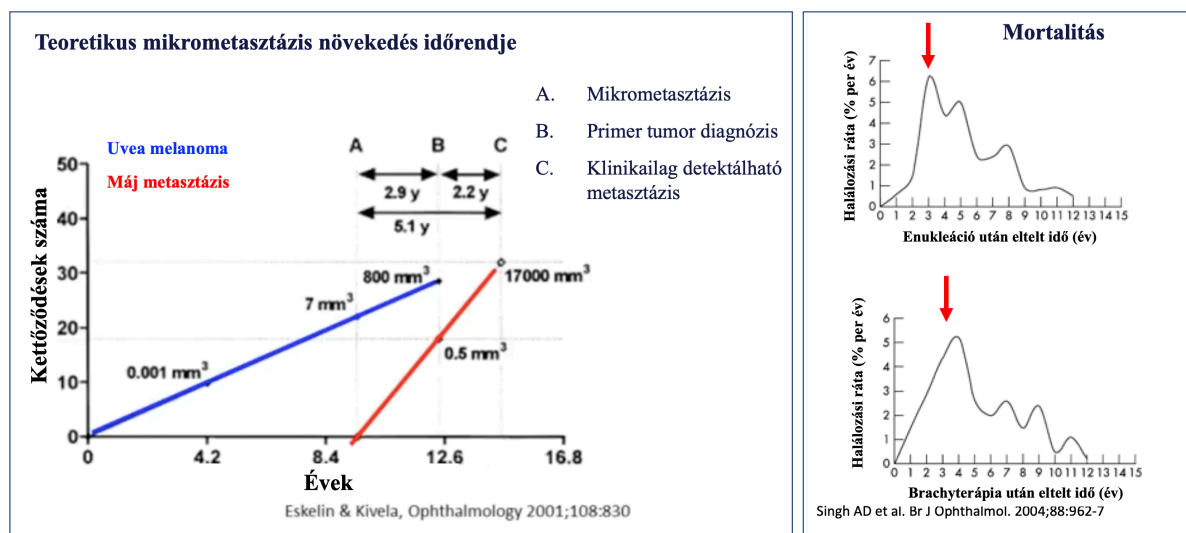
génmutációk összefüggésbe hozhatók a metasztatikus kockázattal és a prognózissal uvea melanomában.¹¹⁷ A 3. kromoszóma monoszómia fokozott metasztatikus kockázattal és rossz prognózissal jár együtt.¹¹⁸ Azonban nemcsak a primer tumor mutációs rátája és a mutáció típusa magyarázhatja az áttétképződési arányokat, hanem a gazdaszervezet válasza (leukocita- és makrofág-infiltrátum) is fontos.¹¹⁹⁻¹²¹

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).¹²²⁻¹²⁹ A GNAQ és GNA11 mutációi a tumor kialakulásának korai szakaszában fordulnak elő, míg a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációi valószínűleg a tumor progressziójának későbbi szakaszában.¹²⁹ 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,¹³⁰ és nem bizonyított, hogy ezek a metasztázis kialakulásával és a túléléssel összefüggésbe hozhatók uvea melanomában.¹²⁹

A jelenleg elfogadott UM modell feltételezi, hogy már a betegség korai szakában a véráramban tumorsejtek cirkulálnak.¹³¹ 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.¹³² A látóideg inváziója ritka, az enukleációval kezelt uvea melanomás esetek 0,6-6,9%-ában írták le.¹³³⁻¹³⁶ A látóideg inváziót rossz prognózissal és magasabb melanomával kapcsolatos halálozással hozták összefüggésbe.^{135,137} A genetikai elváltozásokat tekintve korábbi tanulmányok szerint a EIF1AX-mutálódott UM hosszabb betegségmentes túléléssel jár alacsony metasztázis

rizikóval, az SF3B1-mutálódott daganatok késői metasztázissal társulnak, a BAP1 inaktivációs mutációval rendelkező tumorok pedig korai áttétekkel és rövidebb túléléssel járnak.¹³⁸

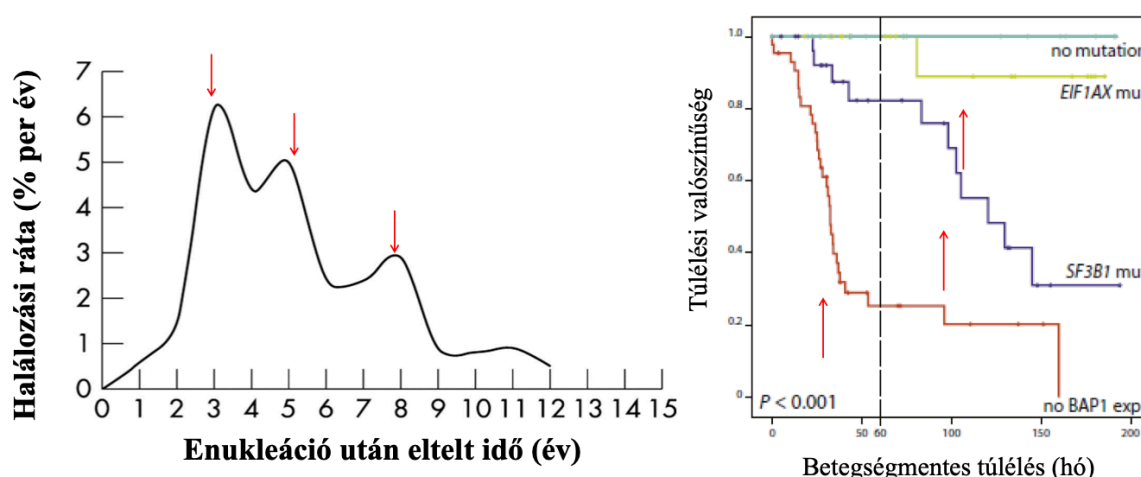
1978-ban Zimmerman, McLean és Foster beszámoltak az uvea melanoma enukleációját követő halálzási arányokról:¹³⁹ a halálzásban két évvel az uvea melanoma diagnóza/kezelése után találtak csúcsot (Zimmerman-McLean-Foster-effektus). Feltételezték, hogy ez a tumorsejtek enukleáció mütét okozta manipuláció általi terjedésének köszönhető (Zimmerman-McLean-Foster hipotézis). Húsz évvel később a Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) csoport közzétette a jó-d-125 plakk brachyterápiát követő halálzási arányokat és azt találták, hogy ezek az arányok nem különböznek az enukleációt követő halálzási arányoktól (10. ábra).¹⁴⁰⁻¹⁴² A COMS csoport azonban a halálzási gyakoriságban is megfigyelt egy csúcsot körülbelül két évvel a brachyterápiá után. E megfigyelések alapján a Zimmerman-McLean-Foster-hatást megerősítették és a Zimmerman-McLean-Foster-hipotézist megcáfolták.¹⁴¹



10. ábra. Eskelin és Kivelä által teoretizált UM mikrometasztázis növekedési modell, valamint a mortalitási ráta a COMS Report alapján enukleáció és brachyterápiá után (Forrás: Eskelin S, Kivelä T. Author's reply. Ophthalmology. 2001;108:830-831. és Singh AD et al. The Zimmerman-McLean-Foster hypothesis: 25 years later. Br J Ophthalmol. 2004;88:962-967.).

szalaieszter_198_24

Mivel enukleációt követően is megfigyelhető áttétképződés, feltételezik, hogy az UM diagnózisának időpontjában klinikailag nem kimutatható, nyugvó mikrometasztázisok léteznek a májban.^{122,143} A jelenlegi felfogás szerint ezek a mikrometasztázisok progressziót mutathatnak és megnagyobbodhatnak a májban, majd klinikailag kimutathatóvá válnak.¹⁴³ Ez a jelenség körülbelül 2 évvel a primer tumor diagnózisa/kezelése után figyelhető meg, ami megfelel Zimmerman, McLean és Foster, valamint a COMS megállapításainak.¹⁴⁰⁻¹⁴² A 2012-es Zimmerman-előadásban Grossniklaus azt feltételezte, hogy a Zimmerman-McLean-Foster-effektus az uvea melanoma sztochasztikus tulajdonságainak és a gazdaszervezeti válasznak (a végszervi tumorszuppresszió elvesztése) a következménye lehet.¹⁴³ Érdekes módon a COMS-csoport három csúcsot figyelt meg a halálzási arány grafikonjain mind az enukleációval, mind a brachyterápiával kezelt betegek esetében.¹⁴¹ Nemrégiben a Rotterdam Ocular Melanoma Study Group arról számolt be, hogy az EIF1AX-mutálódott uvea melanomák hosszabb betegségmentes túléléssel és alacsony áttétképződési kockázattal, az SF3B1-mutálódott tumorok késői áttétképződéssel, a BAP1-mutálódott uvea melanomák pedig korai áttétképződéssel és csökkent túlélési rátával járnak (11. ábra).¹³⁸⁻¹⁴¹



11. ábra. Az enukleációt követő éves halálozási arány közepes méretű uvea melanoma esetén (balra, forrás: Singh AD et al. The Zimmerman-McLean-Foster hypothesis: 25 years later. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:962-967.). A Rotterdam Ocular Melanoma Study Group által közzétett, különböző mutációs státuszú uvea melanomás betegek túlélési valószínűsége (jobbra, forrás: Yavuziyigitoglu S et al; Rotterdam Ocular Melanoma Study Group. Uveal melanomas with SF3B1 mutations: a distinct subclass associated with late-onset metastases. *Ophthalmology* 2016;123:1118-1128.)

A BAP1 egyike azon géneknek, amelyek mutációi a tumor fokozott epithelialis-mesenchymalis fenotípus változását eredményezik. Ebben a mutációs szekvenciában a BAP1 mutáció feltételezhetően viszonylag későn következik be a tumor progresszióját tekintve, amelyet megelőznek a G-protein alegységek, köztük a GNA11 és GNAQ onkogén mutációi, amelyek az UM7 83-96%-ában vannak jelen.¹²⁹ Úgy gondolják, hogy ezek az alegységmutációk nem elegendőek a metasztatikus betegség kialakulásához. A BAP1 mutációk feltehetően a GNA11 vagy GNAQ mutációk után jelennek meg és a tumor progressziójának megnövekedett kockázatával korrelálnak.¹⁴⁴

Jól dokumentált, hogy a nagyobb méretű tumorok nagyobb valószínűséggel hordoznak BAP1 mutációkat, amely alátámasztja a prognosztikai következményeket.¹⁴⁵ Ugyanakkor arra is van bizonyíték, hogy a kisebb uvea melanómák is hordozhatnak BAP1 mutációkat és magmetasztázisokat.¹⁴⁶ Az irodalomban ismertetett legkisebb metasztatikus potenciállal rendelkező UM 3,0 mm átmérőjű és 1,0 mm prominenciájú, ami gömb alakú sejtmodellekben

szalaieszter_198_24

4,7 mm³ térfogatnak felel meg.¹⁴⁷ Egy tanulmány kimutatta, hogy $59 \leq 3$ mm prominenciájú és ≤ 9 mm átmérőjű chorioidea melanomából 6-ban alakultak ki metasztázisok a kezelést követően, ezzel rávilágít a kis UM-ek metasztatikus potenciáljára.¹⁴⁸ Emellett léteznek olyan matematikai modellek is, amelyek a máj mikrometasztázisok elszaporodását mutatják, ha az elsődleges UM mérete kisebb, mint 10,0 mm³.^{149,150} Ezek az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy 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 rögzített adatok megértésében és interpretálásában. A legfőbb kihívás a betegségek komplikációinak 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 betegségfolyás 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 mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései

4. Különböző súlyosságú SARS-CoV-2 fertőzésen átesett személyek corneális sejtes és corneális és retinális neurodegeneratív elváltozásainak vizsgálatát végeztük nem 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. Végző 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 prospektív vizsgálatokra a résztvevők tájékozott, írásos hozzájárulását követően került sor. Eredményeink adatelemzése során a betegadatokat anonimizáltuk és kódolás után az adatokat egy, csupán a kutatásban résztvevők által hozzáférhető adatbázisban tároltuk.

A felsorolt vizsgálatok módszertana az irodalomban közölteknek megfelelt, a kutatási tervek 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 (amikor a következő három objektív szárazszem-teszt közül legalább kettő kóros volt: Schirmer I. érték < 10 mm/5 perc, könnyfilm felszakadási idő < 10 másodperc, fluoreszcein szaruhártya-festés > 4 világos folt). A betegek kórtörténetében nem szerepelt szisztémás, szemet érintő rendellenesség vagy bármilyen szemészeti betegség, valamint korábbi szemműtét.

szalaieszter_198_24

- 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 (4 betegnek rheumatoid arthritis, 2 betegnek szisztémás szklerózis).
- 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). A kontaktlencsét viselőket kizártuk a vizsgálatból.

Az anamnézis felvétele és a látóélesség rögzítése után minden alany esetében a könny ozmolaritását a TearLab készülékkel mértük. A tesztkártya 50 nL könnymintát gyűjt és elemez az alsó könnymeniszkuszból, az oldalsó kantusz közelében, kapilláris hatás révén. A gyártó által ajánlott módon minden egyes vizsgálati nap előtt kalibrációt végeztünk. A száraz szemű betegek megkülönböztetésére ≥ 316 mOsm/L ozmolaritás eredményt javasolták.³⁸ Az adatgyűjtés során a legtöbb esetben két szemem történő mérést alkalmaztunk és mindkét szem eredményeit bevontuk az elemzésbe. A könny ozmolaritás napszakos ingadozásának elkerülése érdekében minden mérést reggel 8:00 és 11:00 óra között végeztünk.

Ezután réslámpás vizsgálattal megfigyeltük a szemhéjjal párhuzamos kötőhártya-redők (LIPCOF) jelenlétét és fokozatát az alsó temporális kvadránsban és a Höh és munkatársai által leírt 0-3 skálán pontoztuk.¹⁵¹ A ≥ 1 LIPCOF-pontszámot kórosnak minősítettük. A klasszikus koppenhágai tesztek egymás után végeztük el. A Schirmer I. tesztet helyi érzéstelenítés nélkül végeztük egy standardizált filterpapír (Bausch & Lomb Inc., Berlin, Németország) segítségével, az alsó kötőhártyazsákba helyezve. A nedvesedés mértékét 5 perc elteltével milliméter egységben mértük és az 5 perc alatt ≤ 5 mm-es eredményt kórosnak ismertük el. A könnyfilm felszakadási idő értékeléséhez 1,0%-os fluorescein oldatot csepegtettünk be és az

utolsó pislogás és az első száraz folt megjelenése közötti időintervallumot rögzítettük. A száraz szem küszöbértékeként ≤ 10 másodperces BUT értéket használtunk. A szaruhártya hámjának fluoreszcein festődését kobaltkék szűrő alatt vizsgáltuk. Több mint 4 fényes fluoreszcens foltot tekintettük a száraz szem kimutatásának. Végül a Meibom-mirigyek állapotát és a szaruhártya átlátszóságát rutinszerű réslámpás vizsgálattal vizsgáltuk és egy numerikus skálán értékeltük.

A statisztikai elemzéseket az SPSS for Windows (13.0 verzió) és a MedCalc (10.2.0 verzió) statisztikai szoftverekkel végeztük. A három vizsgálati csoport között a binomiális változókat Khi-négyzet teszttel, a folytonos változókat pedig Kruskal-Wallis varianciaanalízissel (ANOVA) hasonlítottuk össze. Két változó közötti összehasonlítást Mann-Whitney U-teszttel (folytonos változók) és Fisher pontos tesztjével (binomiális változók) végeztük. Az eredmények közötti korrelációt Spearman rangteszttel számoltuk ki. Az egyes szárazszem-tesztek diagnosztikus teljesítményét ROC-görbék (receiver operating characteristic) elemzésével értékeltük. A $P < 0,05$ értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

1.2 Szisztémás szklerózis

Prospektív, keresztmetszeti, megfigyeléses, eset-kontroll vizsgálatunkba a mindenkori nemzetközi kritériumoknak megfelelően diagnosztizált SSc-betegeket vontunk be,¹⁵² akik mindannyian a Debreceni Egyetem Reumatológiai Klinikáján állnak gondozás alatt. A kontroll csoport tagjai rutin szemészeti vizsgálatra jelentkező, kisebb fénytörési hibával ($\pm 1,0$ Dioptria) rendelkező alanyok közül kerültek ki, akiknek a kórtörténetében nem szerepelt semmilyen szisztémás betegség, mint például diabétesz mellitusz, reumatológiai betegségek, Sjögren-szindróma, kötőszöveti betegségek (Weill-Marchesani-szindróma, Ehlers-Danlos-szindróma, osteogenesis imperfecta, Marfan-szindróma). Az egészséges kontrollokat ugyanabban az

időszakban vontuk be a vizsgálatba és ugyanazokon a szemészeti vizsgálatokon estek át, mint az SSc-s betegek.

A méréseket megelőző két héten belül szemcseppek alkalmazása kizáró kritérium volt mind a betegcsoportban, mind a kontrollcsoportban és a vizsgálati napokon sem volt megengedett a szemcseppek alkalmazása. További kizárási kritérium volt a szemhéj rendellenes állása és záródása, kontaktlencse viselése, szemműtét, a sclera, az episclerális réteg vagy az uvea gyulladása, a szem traumája, perifériás vagy centrális szaruhártya fekély.

Minden résztvevőn átfogó szemészeti vizsgálatot végeztünk, beleértve a nem cikloplegiában vizsgált, szemüveggel legjobban korrigált látóélességet (BCVA) a Snellen-táblázatban, a szemnyomás (IOP) mérését és a réslámpás vizsgálatot a szemhéjak, a kötőhártya elváltozásainak, a szaruhártya állapotának és a könnyfilmnek a megfigyelésére.

Az elülső szegmentum vizsgálata forgó Scheimpflug-kamera (Pentacam HR, Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Németország) segítségével történt, szűk pupillával. A rögzített paraméterek a következők voltak: a szaruhártya elülső és hátsó keratometriája a lapos tengelyben (K1) és a meredek tengelyben (K2), a szaruhártya térfogata (CV) és az elülső csarnok mélysége (ACD). A vizsgálathoz három megbízható mérés átlagát használtuk.

A száraz szem betegség értékeléséhez a könny felszakadási időt, majd a Schirmer I. tesztet végeztük el a fentiekben ismertetett módon. A vizsgált személy szemén három egymást követő mérést végeztünk (mind a jobb, mind a bal szemén) és a három érték átlagát vettük átlagértéknek. A száraz szem határértékeként a ≤ 5 másodperces BUT értéket használtuk, valamint 5 perc alatt ≤ 10 mm-es Schirmer-értéket vettük kórosnak. Az OSDI önkitöltős kérdőív segítségével felvettük a szemfelszíni panaszokat és az osztályozását a korábban közzétett irányelvek szerint végeztük: normális szemfelszín (0-12 pont), enyhe (13-22 pont), közepes (23-32 pont) vagy súlyos (33-100 pont) szemfelszínbetegség.¹⁵³ Az SSc-betegeket az

OSDI pontszámuk alapján a normál szemfelszíntől a súlyos szemfelszíni betegségig terjedően 4 csoportba soroltuk.

Minden betegnél és egészséges személynél IVCM-képzést végeztünk mindkét szem minden egyes szaruhártya-rétegéről, beleértve a szubbazális idegplexust is, a Heidelberg Retina Tomograph III Rostock Cornea Module (HRT III RCM; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország) segítségével. Mindkét szemet helyi érzéstelenítő (tetrakain-hidroklorid 0,4%) szemcseppel érzéstelenítettük. Egy steril polimetil-metakrilát sapkában (Tomo-Cap; Heidelberg Engineering GmbH) szemészeti gélt (Vidisic Gel; Bausch&Lomb, Berlin, Németország) alkalmaztunk, amelyet az objektív lencsére helyeztünk. A konfokális mikroszkópos felvételeket a hámtól az endoteliumig rögzítettük mind a morfológiai, mind a mennyiségi elemzéshez. Az összehasonlító elemzésbe egészséges személyek és SSc-betegek jobb szemét vontuk be.

Három jó minőségű felvételt választottunk ki a bazális hámról, a szubbazális idegplexusról, az elülső és hátsó stromáról és az endotelről. A bazális epiteliumot a Bowman-réteg előtti első három tiszta felvételnél, az elülső stromát a Bowman-réteg utáni első három felvételnél, a hátsó stromát pedig közvetlenül a Descemet-membrán előtti első három felvételnél határoztuk meg. A hám, a keratocita és az endotelréteg felvételén egy legalább 50 sejtet tartalmazó régiót választottunk ki, a sejteket kézzel jelöltük és a szoftver automatikusan kiszámította a sejtsűrűséget (sejt/mm²). A további összehasonlításhoz három mérés átlagát használtuk. A szubbazális idegplexus három felvételét választottuk ki és elemeztük az ACCMetrics szoftver (University of Manchester, Manchester, Egyesült Királyság) segítségével.¹⁵⁴⁻¹⁵⁸ A szaruhártya idegrost-sűrűség (NFD), az idegrostok száma/mm²; idegág-sűrűség (NBD), a fő idegrostok elsődleges elágazási pontjainak száma/mm²; idegrost-hossz (NFL), az idegek teljes hossza mm/mm-re számítottuk; idegrostok teljes elágazási sűrűsége

(NTBD), az elágazási pontok teljes száma/mm²; idegrostterület (NFA), az idegrostok teljes területe mm²/mm²; idegrostszélesség (NFW), az idegrostok átlagos szélessége mm/mm².

A statisztikai elemzést a MedCalc 10.2.0 verziójával és az SPSS 13.0 for Windows programmal végeztük. A Kolmogorov-Smirnov-tesztet használtuk annak vizsgálatára, hogy adataink normális eloszlásúak-e. Páratlan összehasonlításhoz a Mann-Whitney U-tesztet, a páros adatokhoz pedig a Wilcoxon-tesztet használtuk. A kétváltozós korrelációelemzéshez Spearman korrelációs tesztet alkalmaztunk. A $P \leq 0,05$ értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

1.3 Epizódikus migrén

Vizsgálatunkban minden alany 2022. júliusa és 2023. márciusa között került a Pécsi Tudományegyetem Neurológiai Klinikájának Fejfájás Ambulanciájára és megfelelt a Nemzetközi Fejfájás Társaság (3. kiadás) által meghatározott betegség kritériumoknak.¹⁰⁵ Minden résztvevő strukturált neurológiai vizsgálaton esett át (anamnézis felvétele, fizikális vizsgálat, vérnyomásmérés, szérum- és vizeletvizsgálat, agyi MRI-vizsgálat), 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). A szemészeti vizsgálatához olyan betegeket választottunk ki, akiknek nem voltak súlyos társbetegségeik, például magas vérnyomás, szívbetegség, cukorbetegség, pajzsmirigy-működési zavar, onkológiai és hematológiai betegségek, fertőző betegségek (pl. HIV, hepatitis), központi idegrendszeri demielinizáció (pl. sclerosis multiplex), perifériás neuropátia és genetikailag öröklődő rendellenességek. A betegek egyike sem szenvedett menstruációs migrénben.

szalaieszter_198_24

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.⁷⁹ A központi szaruhártya három különböző területén három jó minőségű pillanatfelvételt választottunk ki a szubbazális idegplexusról és ezeket az ACCMetrics V3 szoftverrel elemeztük. A korábban ismertetett paramétereken kívül meghatároztuk a fraktáldimenziót (FD) is.

A DC területének méréséhez az IVCN-képeken az ImageJ szoftver (<http://imagej.nih.gov/ij/>; National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) Set Scale, Threshold and ROI Manager funkcióját használtuk.¹⁵⁹ Először a skálát az eredeti IVCN-kép alapján 50 mikronra állítottuk be. Ezután a küszöbérték funkciót alkalmaztuk a DC-k kiemelésére. Az egyes DC-k jelölésére a ROI Manager-t használtuk a nyomkövetési eszközzel. Minden alany három képén tíz DC területét elemeztük.¹⁵⁹ A sejtszám és a sejterület mérésébe csak az elágazásokkal (dendritekkel) rendelkező érett DC-eket vettük be. Minden sejtsűrűség és sejterület paramétert két független vizsgáló értékelt a torzítás elkerülése érdekében és az összehasonlító elemzéshez a maszkolt vizsgáló méréseit használtuk. A gyenge minőségű IVCN-képeket vagy bármilyen mozgási műtermék jelenlétét kizártuk az elemzésből.

Számos könnyfilm-paramétert (alsó könnymeniszkusz magasságának mérése, felső szemhéj meibográfia, interferometria, nem invazív könnyfilm felszakadási idő) határoztunk meg a LacryDiag, nem invazív könnyfilm-képalkotó eszköz segítségével. A NIBUT szoftver

automatikusan észleli a pislogásokat, rögzíti a pislogások közötti intervallumot és kiszámítja a NIBUT eredményét. A kézikönyv szerint, ha a pislogások közötti intervallum eléri a 12 másodpercet, a felvételt le kell állítani. Itt a NIBUT és a TBUT esetében egyaránt 10 mp-es, valamint a NIBUT esetében 12 mp-es és a TBUT esetében 8 mp-es határidőt alkalmaztunk. Az elemzéseket egy tapasztalt vizsgáló végezte. Minden migrénes és kontroll személy kitöltötte az OSDI kérdőívet.

Az adatokat az SPSS Statistics 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY), a MedCalc 14.8.1 verziója (MedCalc Software, Ostend, Belgium) és a Prism 9.4.1 for macOS (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) segítségével elemeztük. Nem-parametrikus Mann-Whitney U-tesztet végeztünk a fejfájás által dominánsan érintett oldal és az érintetlen oldal adatainak összehasonlítására, az alcsoportok elemzéséhez pedig ANOVA tesztet alkalmaztunk. A kétváltozós korrelációelemzéshez a Spearman-féle rangkorrelációt használtunk. Többszörös logisztikus regressziót alkalmaztunk a száraz szem szaruhártya paraméterekre gyakorolt zavaró hatásának kiszűrésére. A 0,05 alatti P-értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaszkuláris 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 kontroll személyeket rutin szemészeti vizsgálatra jelentkező betegek közül választottuk ki, akiknek a kórtörténetében nem szerepeltek szisztémás betegségek, például cukorbetegség, reumatológiai betegségek vagy kötőszöveti rendellenességek. Az olyan SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeket, akiknek korábban fennálló általános betegségük volt, beleértve a metabolikus és a szív- és érrendszeri betegségeket, kizártuk az elemzésből. Egyik csoportban sem volt olyan alany, akinek korábbi

vagy jelenlegi kórtörténetében szemészeti betegség, kontaktlencse viselése vagy intraokuláris műtét szerepelt volna. A szemészeti vizsgálat magában foglalta a réslámpás vizsgálatot szemfenék vizsgálattal, az intraokuláris nyomás mérését és az IVCM-et.

Minden vizsgálati alanyon kétoldali konfokális mikroszkópos képalkotást végeztünk a szaruhártya sejtrétegeiről és a szaruhártya szubbazális idegrostjairól a Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module (HRT II RCM; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország) segítségével egy tapasztalt vizsgáló által a korábban leírtak szerint. Minden alany egyik szemét véletlenszerűen választottuk ki a statisztikai elemzéshez.

Minden szemről 3 jó minőségű képet választott ki egy másik vizsgáló a megfigyelői torzítás csökkentése érdekében. A bazális epitelium, az elülső és hátsó stroma és az endotelium sejtszámának elemzésére a műszer alapú szoftvert ugyanaz a maszkolt vizsgáló használta. Az összehasonlító elemzéshez három mérés átlagát vettük alapul. Az epitel-, keratocita- és endotelsejt sűrűségeket a korábban leírtaknak megfelelően műszeres, félautomata szoftverrel számoltuk ki.⁷⁹ A központi szaruhártya-hámban lévő dendritikus sejteket szintén manuálisan jelöltük és a DC sűrűséget a műszer-alapú szoftver automatikusan kiszámította.

A DC területének méréséhez az IVCM-képeken az ImageJ szoftvert használtuk, ahogyan azt a korábbiakban leírtuk. 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,¹⁶⁰ a tortuozitást, a szubbazális idegrostok diszkontinuitását és a gyöngyfűzészerű stromális idegek jelenlétét.

Második COVID-19 fertőzés hatását vizsgáló tanulmányunkba hatvanhárom 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 kontroll személyeknek sem a múltban, sem a vizsgálat idején nem volt semmilyen szisztémás vagy szemészeti betegségük és egyik csoportban sem volt olyan résztvevő, aki korábban kontaktlencsét viselt volna vagy intraokuláris műtéten esett át. A kutatási protokoll mindkét vizsgálati csoportban látóélesség-mérést, réslámpás vizsgálatot, szemnyomás-mérést, valamint elülső és hátsó (midriázisban történő) szegmentum képalkotást tartalmazott, elülső (Anterion; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Németország) és hátsó szegmens (Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT, Topcon, Japán) OCT-vel, OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkópiával (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország).

Az elülső szegmentum SS-OCT (Anterion, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország) segítségével méréseket végeztünk a szem biometriai adatainak feltérképezésére. Rögzítettük a cornea elülső felszínének törőerejét, az astigmatát, a centrális cornea vastagságot, az elülső csarnok mélységét (ACD), a „white-to-white” távolságot (WTW), a szemlencse vastagságát (LT) és a szemgolyó tengelyhosszát (AL) a berendezés „Cataract App” programjával. A mérések non-invazív, illetve non-kontakt módon történtek.

SS-OCT és SS-OCTA (Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT, Topcon, Japán) méréseket végeztünk a látóidegfő, az ideghártya és a chorioidea strukturájának, valamint a retina szuperficiális és mély kapilláris hálózatának leképezéséhez. Minden OCT és OCTA vizsgálatot jól képzett, tapasztalt vizsgáló végzett. Pupillatágítást követően minden vizsgált szemről 3x3 mm nagyságú, foveára centrált, 320x320 A-szkent tartalmazó OCTA felvételt készítettünk. A rossz minőségű OCTA képeket és a mozgási artefaktot tartalmazó felvételeket kizártuk az elemzésből. A retinális érhálózat számszerű elemzéséhez és a rétegek szegmentálásához az eszköz beépített szoftverét (IMAGEnet 6 Version 1.26.16898, Topcon) alkalmaztuk. A felszínes kapilláris hálózat mérése az ILM alatt 2,6 μm -re kezdődő és a belső

szalaieszter_198_24

plexiform réteg (IPL) és a belső magvas réteg (INL) határa alatt 15,6 μm -re végződő, a mély kapilláris hálózat mérése az IPL/INL határ alatt 15,6 μm -re kezdődő és a 70,2 μm -re végződő rétegben történt. A vaszkuláris denzitást (VD) automata módon, az IMAGEnet szoftver segítségével határoztuk meg. Az érsűrűséget az ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) rács két belső gyűrűjében, négy kvadránsban (felső, alsó, nazális, temporális) és a központban kvantifikáltuk. Az OCTA képek elemzését két tapasztalt vizsgáló validálta. A foveoláris avaszkuláris zóna körbe jelölése manuálisan történt, ugyanazon gyakorlott vizsgáló által. A FAZ határának megrajzolását követően a készülék μm^2 -ben jelezte ki a terület méretét.

A macula és a látóidegfő strukturális vizsgálatához az OCT készülék maculára centrált SMARTTrack HD Raster (6,0 x 6,0 mm) és a papillára centrált 3D Disc (6,0 x 6,0) programját alkalmaztuk. A retina idegrostréteg (RNFL) vastagságot a látóidegfőre centrált, 3,4 mm sugarú körben a készülék beépített szoftvere segítségével határoztuk meg a 3D Disc felvételeken. Az RNFL mérése az ILM és az RNFL – ganglionsejt réteg határ között történt. A maculára centrált HD Raster felvételeken az automatikusan szegmentált vastagsági térkép megtekintésével a ganglionsejt-komplex, a centrális retina és a centrális érhártya vastagságát értékeltük. A chorioidea vastagságát a Bruch-membrán és a chorioideo-sclerális határfelszín között, a retina vastagságát az ILM és az RPE között mértük a centrális 1 mm átmérőjű körben. A GCL (ganglionsejt-réteg) tekintetében két paramétert is rögzítettünk: a GCL+ mérése a RNFL/GCL határ és az IPL/INL határ között, a GCL++ mérése az ILM és IPL/INL határ között történt. A mérések non-invazív, non-kontakt módon történtek.

A statisztikai elemzést a MedCalc 14.8.1 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium), az IBM SPSS 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA), valamint a GraphPad Prism 9.1.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA) szoftverek segítségével végeztük. Az adatok normál eloszlásának vizsgálatához Kolmogorov-Smirnov tesztet végeztünk. Normál eloszlás

esetén a páronkénti összehasonlításhoz páros vagy független t-próbát alkalmaztunk. Amennyiben az adatok eloszlása nem követte a Gauss-eloszlást, Mann-Whitney U-tesztet vagy Wilcoxon próbát használtunk. A korrelációk elemzéséhez Pearson vagy Spearman-féle korrelációs tesztet alkalmaztunk. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük az eredményt, amennyiben a P érték 0,05-nél kisebb volt.

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 magába. Minden vizsgálati személyen teljes szemészeti vizsgálatot végeztünk, beleértve a látóélességet, a szemnyomás-mérést, a réslámpás vizsgálatot tágitott szemfenék vizsgálattal, szaruhártya-tomográfiát (Anterion; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország), IVCM-et (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország), hátsó szegmens OCT és OCT angiográfiát (Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT, Topcon, Japán). Ezen vizsgálatok mindegyike a fentiekben részletesen ismertetett protokollok szerint történt. Az egészséges alanyok kórtörténetében nem szerepelt szemészeti műtét, trauma, jelenlegi vagy korábbi szemészeti betegség, kivéve a fénytörési hibákat ($\pm 3,0$ D-nél kisebb szférikus és cilindrikus fénytörési hiba). A diabéteszes retinopátia (DR) stádiumának osztályozására a Nemzetközi Diabéteszes Retinopátia Súlyossági Skálát (International Clinical Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale)¹⁶¹ használtuk: 0 = nincs retinopátia, 1 = enyhe, nem proliferatív DR, 2 = mérsékelt, nem proliferatív DR, 3 = súlyos, nem proliferatív DR és 4 = proliferatív DR.

Az adatokat az SPSS Statistics 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY), a MedCalc 14.8.1 verziója (MedCalc Software, Ostend, Belgium) és a Prism 9.4.1 for macOS (GraphPad

Software, San Diego, CA, USA) segítségével elemezték. A Mann-Whitney U tesztet két csoport vagy változó közötti összehasonlításhoz végeztük. A kétváltozós korrelációelemzéshez a Spearman-féle rangkorrelációt használtunk. A 0,05 alatti P-értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

Tanulmányorozatunk harmadik részében uvea melanomában szenvedő betegek mintáit elemeztük és klinikai, valamint szövettani sajátosságait vizsgáltuk prognosztikai szempontból. Nagy elemszámú adatbázisok alapján mutációs és metasztázis analíziseket végeztünk.

3.1 Uvea melanoma nervus opticus inváziója

Az Emory Szemészeti Központ L. F. Montgomery Szemészeti Patológiai Laboratóriumában 1997. januárja és 2016. októbere között primer chorioidea melanoma miatt enukleáción vagy exenteráción átesett betegek kórlapjait és szövettani preparátumait tekintettük át, akiknél a hisztopatológia a melanoma látóideg invázióját mutatta ki. Az elemzésből kizártuk azokat a betegeket, akiknél a primer tumor az íriszből és/vagy a sugártestből indult ki. Az értékelt betegadatok között szerepelt az életkor és a nem. 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 sejttípusa, a sclera invázió, az extrasclerális extenzió a műtét idején, a Bruch-membrán áttörése, a nekrozis, a mitotikus aktivitás, az üvegtestbe való betörés vagy vérzés, emisszáriák érintettsége, a vortex véna és a retina inváziója.

szalaieszter_198_24

Az enukleációs/exenterációs mintákat azonnal formalinnal (10%) fixáltuk és paraffinba ágyasztuk (FFPE). A melanoma központi részét is tartalmazó, 5 µm vastag, pupillát és n. opticust is tartalmazó átmetszetet üveglemezekre helyeztük, majd a metszeteket xilollal deparaffinizáltuk és etanol és desztillált víz fokozatos sorozatán keresztül rehidráltuk. A metszeteket hematoxilinnal és eozinnal (H&E) és perjódsav-Schiff jelöléssel (PAS) festettük a rutin protokolloknak megfelelően. A tárgylemezeket fénymikroszkóppal (Olympus BHTU, Tokió, Japán) kvalitatív és kvantitatív módon értékeltük. A tumort akkor tekintettük nekrotikusnak, ha a tumor több mint 50%-a nekrotizált területeket tartalmazott. Meghatároztuk a daganat növekedési mintázatát a látóideg inváziója szempontjából (azaz peripapilláris tumor, transzvitreális, retinális invázió vagy e növekedési minták kombinációja).

A statisztikai elemzést az SPSS for Windows (22.0 verzió) és a MedCalc (14.8.1 verzió) statisztikai szoftverekkel végeztük. Az adatok normalitását Kolmogorov-Smirnov teszt segítségével vizsgáltuk. Ha a normalitást a teszt elutasította, nem-parametrikus tesztet végeztünk. Két változó közötti összehasonlítást folytonos változók esetében Mann-Whitney U-teszt, binomiális változók esetében pedig Fisher tesztje segítségével végeztük. A $< 0,05$ P-értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

3.2 Uvea melanoma BAP1 immunreaktivitása

Negyven primer UM miatt enukleált beteg (22 férfi, 18 nő, átlagéletkor: $57,98 \pm 14,75$ év) 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

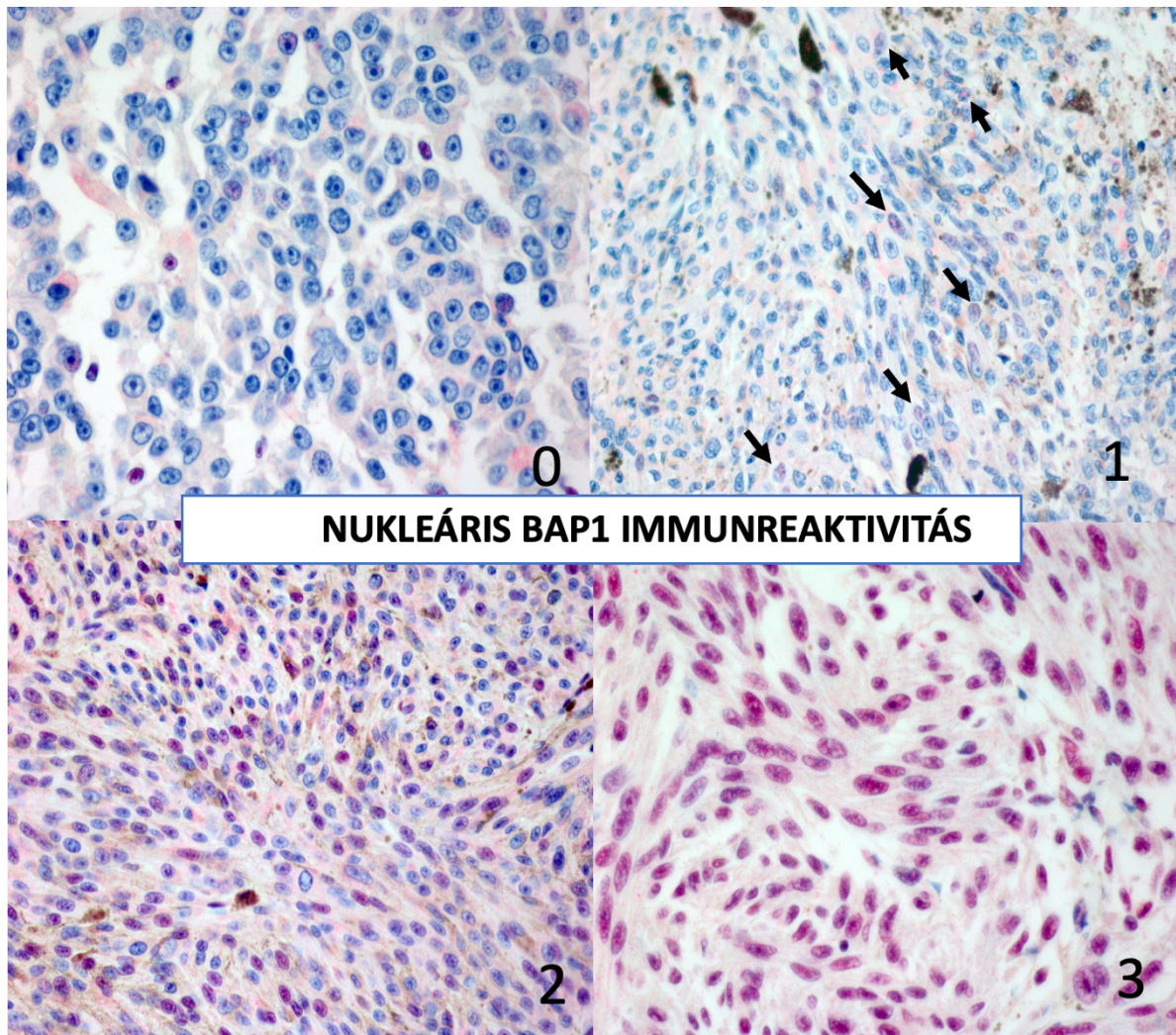
szalaieszter_198_24

alkalmazásával is vizsgáltuk, az immunreaktivitást mértük szemikvantitativan külön a sejtmagban és a plazmában (200x nagyítás) egy négyfokú saját fejlesztésű skálán (12-13. ábra).

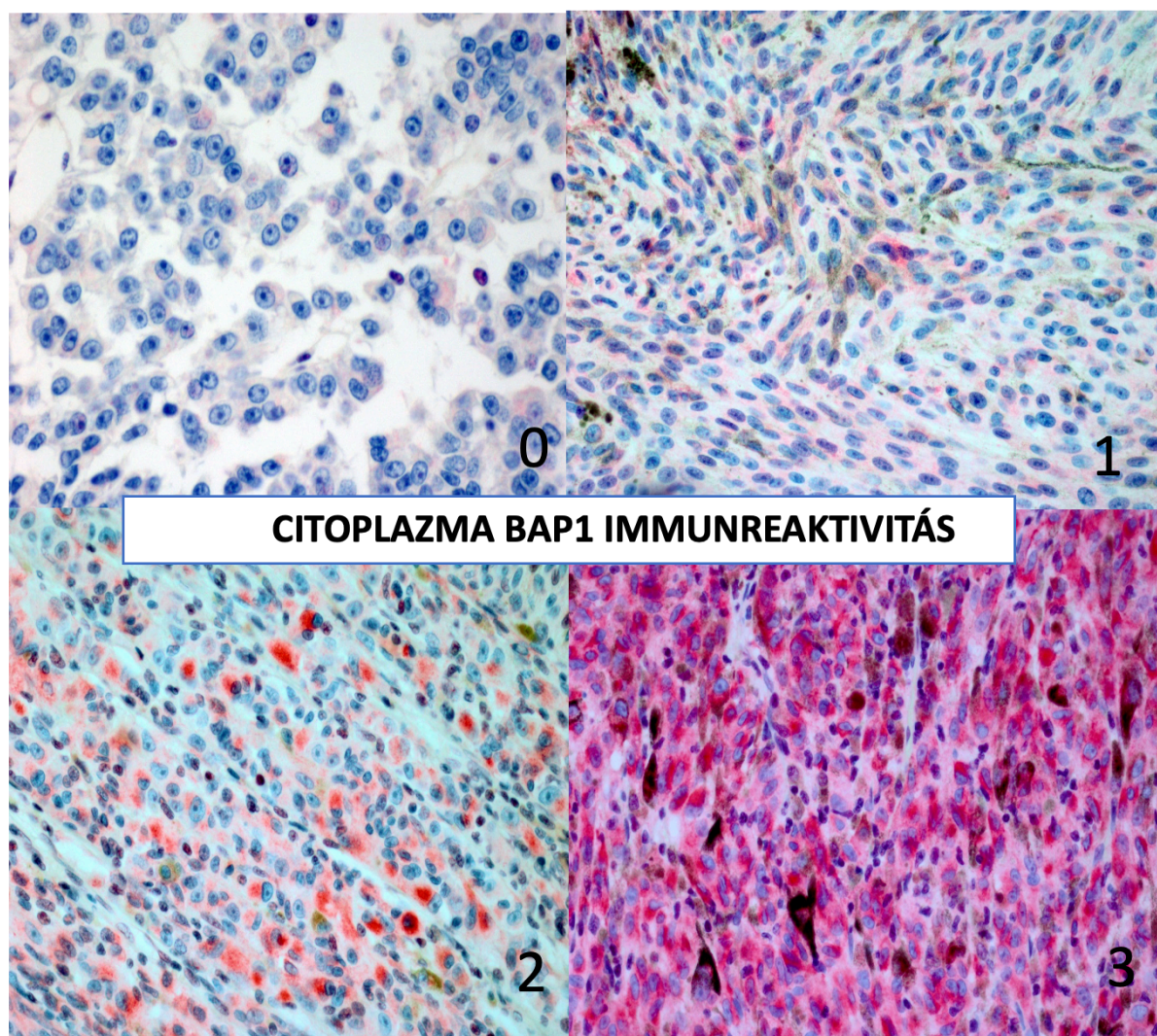
Az vizsgált klinikai-patológiai jellemzők a következők voltak: a beteg kora, neme, az enukleáció előtti kezelési modalitás, a legnagyobb bazális átmérő, a tumor vastagsága, a tumor szövettani sejtípusa, sclerális invázió, extrasclerális terjedés a műtét idején, a Bruch-membrán áttörés, vortex véna invázió, 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.

Leíró statisztikákat számoltunk a demográfiai és klinikai tényezőkről az áttét nélküli és az áttétes betegek esetében. A leíró statisztikákat folyamatos változók esetében átlag \pm standard eltérés, kategorikus változók esetében pedig gyakoriság és százalékos értékek formájában adtuk meg. A két csoport között a klinikai változók összehasonlítására t-próbát vagy Khi-négyzet próbát végeztünk. 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).

Az áttét jelenléte és a megfigyelt klinikai változók (LBD, tumor vastagsága, nukleáris BAP1 festődés) közötti kapcsolatot szintén vizsgáltuk két- és többváltozós logisztikus regressziós modellekkel. A megfelelő esélyhányadosokat (EH) és 95%-os konfidencia intervallumokat (KI) is kiszámítottuk. Az áttétmentes túlélést, amelyet az áttétes betegség kialakulásáig eltelt időként határoztunk meg, Kaplan-Meier-módszerrel elemeztük. Ha egy vizsgálati alanyban nem alakult ki metasztatikus betegség, akkor az utolsó vizsgálati időpontot vettük alapul. A statisztikai elemzést a SAS 9.4 programmal végeztünk, 0,05-ös alfa értékkel.



12. ábra. A BAP1 immunreaktivitás különböző grádusai a sejtmagban (100x), 0 = pozitív festődés a sejtek kevesebb, mint 10%-ában nagy nagyítású látóterenként, 1 = pozitív festődés (nyilak) a sejtek több, mint 11%-ában, de kevesebb, mint 33%-ában nagy nagyítású látóterenként, 2 = pozitív festődés a sejtek több, mint 34%-ában, de kevesebb, mint 66%-ában nagy nagyítású látóterenként, 3 = pozitív festődés a sejtek több, mint 67%-ában nagy nagyítású látóterenként.



13. ábra. A BAP1 immunreaktivitás különböző grádusai a citoplazmában (100x), 0 = pozitív festődés a sejtek kevesebb, mint 10%-ában nagy nagyítású látóterenként, 1 = pozitív festődés a sejtek több, mint 11%-ában, de kevesebb, mint 33%-ában nagy nagyítású látóterenként, 2 = pozitív festődés a sejtek több, mint 34%-ában, de kevesebb, mint 66%-ában nagy nagyítású látóterenként, 3 = pozitív festődés a sejtek több, mint 67%-ában nagy nagyítású látóterenként.

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.^{140,162} Shields és munkatársai milliméterenként különböző tumorvastagsági értékek mellett számították ki az uvea melanoma 5 éves metasztatikus rátáját.¹⁶² A Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26 beszámolt az 5 év múlva áttétet adó uvea melanomás betegek becsült arányáról.¹⁶³ E tanulmányok alapján^{162,163} 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. 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.¹⁶² A daganatban lévő malignus sejtek száma ekkor $N_C = \frac{V_T}{V_C}$, ahol $V_C = \frac{4}{3} \pi r^3$ egy tipikus daganatsejt térfogata. 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 uvea melanomás betegek nagy adathalmazát bocsátotta rendelkezésünkre, a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációjának elemzésével.¹³⁸ Tanulmányunk második részében ezen adatok alapján kiszámítottuk a különböző mutációs státuszú tumorok éves metasztatikus rátáját.¹³⁸ Az elemzésből kizártuk azokat a vizsgálati alanyokat, akiknél a kezelés előtt diagnosztizáltak áttétet, vagy akiknél a betegségmentes túlélés ismeretlen volt. A BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációval rendelkező csoportban a kezelés utáni metasztázisok maximális előfordulását a kezelés utáni összes metasztázis arányában számoltuk ki. Azokat a betegeket, akik egynél több mutációt hordoztak, kizártuk az alcsoport-elemzésből. 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. A mutáns betegcsoportok betegségmentes túlélési valószínűségének értékelésére Kaplan-Meier-görbét is készítettünk.

3.4 Uvea melanoma BAP1 mutáció kialakulásának ideje

Az adatgyűjtés és a minták elemzésének protokollját az Emory Szemészeti Központ L.F. Montgomery Szemészeti Patológiai Laboratóriumában (Atlanta, USA) az Emory Egyetem Intézeti Felülvizsgálati Bizottsága, a stockholmi Szent Erik Szemkórház Szemészeti Patológiai Laboratóriumában (Svédország) pedig a Svéd Etikai Felülvizsgálati Hatóság hagyta jóvá. Minden felhasznált tumor- és betegadatot korábban közzétett projektekből generáltunk és azokat ebben a tanulmányban az elemzés időpontjában anonimizáltuk.

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 a csoportba [szövettanilag igazolt melanoma a chorioideában és/vagy a sugártestben, a beteg elhunyt (a Svéd Etikai Felülvizsgáló Hatóság által a tájékozott beleegyezésről való lemondás követelménye), a génexpressziós osztályozás rendelkezésre állt, elegendő FFPE szövet az immunhisztokémiai festéshez és a tumor szövettanának megfelelő reprezentációja, klinikopatológiai adatok rendelkezésre állása, beleértve a primer tumor legnagyobb bazális átmérőjét és a tumor vastagságát] és kizárási kritériumok (kiterjedt tumornecrosis, vérzés vagy gyulladás, az immunhisztokémiai fehérjeexpresszió vizsgálatát befolyásoló bőséges tumorpigmentáció és a pozitív és negatív belső és külső kontrollok által meghatározott szuboptimális festési eredmények). Ezt a kohorszt 2019-ben és 2020-ban publikálták.^{146,164-166}

A második kohorsz (n = 76) a The Cancer Genome Atlas (TCGA), a National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA gyűjtéséből származik. A Robertson és munkatársai által publikált kiegészítő információkban anonimizált beteg- és tumoradatokat tettek elérhetővé, beleértve a teljes exom-szekvenálás eredményeit.¹¹⁹ Ezeket az adatokat arra használtuk, hogy kiszámíthassuk a BAP1 mutációval rendelkező és nem rendelkező tumorok

közötti térfogatbeli különbséget. A kohorsz eredetileg 80 betegből állt, de 4 beteget kizártunk, mivel nem rendelkeztek teljes tumorméret adatokkal. Ezt a kohorszt 2017-ben publikálták.¹¹⁹

A harmadik, fentiekben már ismertetett kohorszt (n = 40) az Emory Eye Centerből gyűjtöttük össze az eredmények validálása céljából. A bevont tumorokat két szerző (E.S. és H.E.G.) egymástól függetlenül osztályozta a BAP1 expresszió szintje szempontjából. Ezt a kohorszt 2018-ban publikáltuk.¹⁶⁷

A FFPE tumorszelvényeket a BAP1 elleni monoklonális antitestekkel festettük meg vörös kromogénnel (1:40, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA). A Leica Bond-III automatizált rendszer (Leica, Wetzlar, Németország) és a Nano Zoomer 2.0 HT scan (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japán) segítségével digitálisan szkenneltük. A digitális képelemzéshez az Apple számítógépen (Apple Inc., Cupertino, CA) futó QuPath Bioimage elemzőszoftvert (v0.2.3) használtuk.¹⁶⁸ Ezután minden egyes teljes tumorszelvényt elemeztünk a tumorsejtek száma, a BAP1 expresszióvesztést mutató, illetve a megmaradt expressziót mutató sejtek száma, valamint az egyes sejtek méretének mérése (maximális és minimális kaliper) szempontjából. A sejtméréseket az első kohorsz 61 daganatából nyertük és a második és harmadik kohorszban validáltuk. A morfológiai elemzés munkafolyamatát a QuPath szoftver segítségével hoztuk létre. A festés, a szkennelés, a digitális képelemzés és a sejtmérés lépéseit a bevont kohorszok esetében már korábban leírtuk.^{146,164,165}

A tumor- és sejttérfogat becslése:

A tumorok térfogatát félellipszoid alakot feltételezve becsültük meg:^{150,169}

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

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

A tumorsejtek térfogatának számításakor ferde ellipszoid alakot feltételeztünk:

szalaieszter_198_24

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

ahol a és b a sejt hosszú és rövid kalibrálója.

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

$$2^x = \text{tumorsejtek száma}$$

A $P < 0,05$ értékű különbségeket szignifikánsnak tekintettük, minden P érték kétoldalu volt. A folyamatos változókat, beleértve a sejt- és tumorméreteket a Shapiro-Wilk-teszttel és Student t-próbával értékeltük. Az ANOVA F-tesztet és a determinációs együtthatót (R^2) használtuk a BAP1 mutáns sejtek arányának összetett, logisztikus, növekedési, exponenciális, lineáris, logaritmusos, inverz, kvadrátikus és köbös görbék számítási modelljének és illeszkedésének optimalizálására a tumorméret függvényében. Feltételezve, hogy a sejtek ellipszoid alakúak, a sejtek térfogatának kiszámításához a forgó ellipszoidra vonatkozó térfogatformulát használtuk. A tumor térfogatváltozójának x-központúság nélküli bináris logisztikus regresszióját használtuk a BAP1 mutáció valószínűségének előrejelzésére a tumor térfogatának függvényében. Az adott tumor megduplázódási idejének tartományát 154-511 napnak^{149,150} feltételeztük. A nyomon követést úgy határoztuk meg, mint az uvea melanoma diagnózisától az utolsó ismert, metasztatizálatlan életben maradásig eltelt időt hónapokban kifejezve.

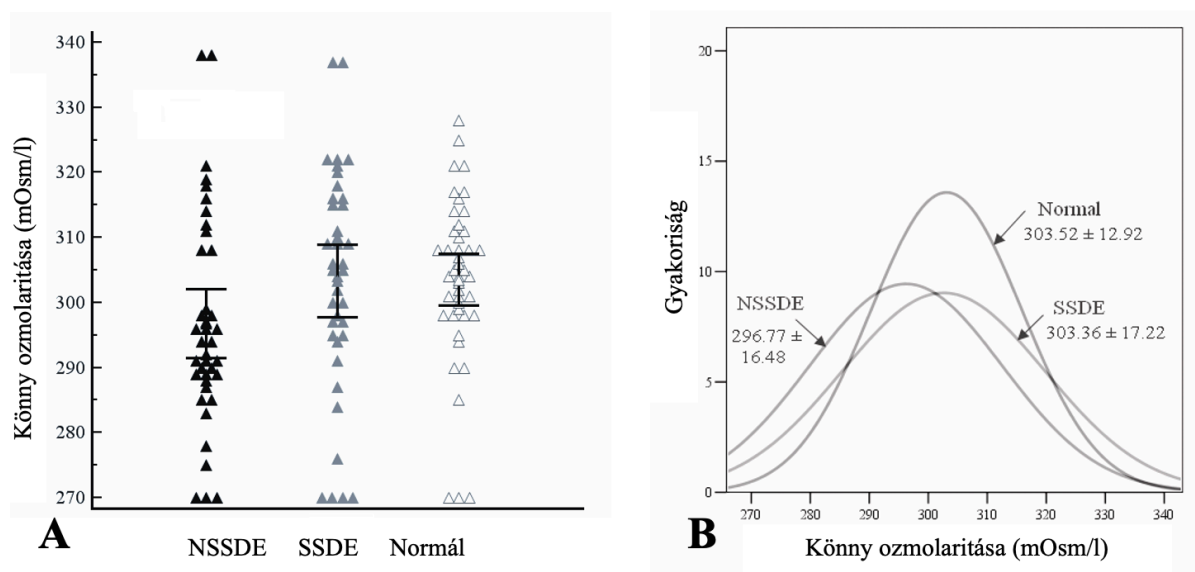
EREDMÉNYEK

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 fennállási 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), amint azt az 2. táblázat és az 14-15. ábra mutatja. A könny hiperozmolaritás 6 NSSDE esetben (15%) volt kimutatható (14. ábra). Az 1. csoportban minden betegnél kóros LIPCOF értéket találtunk, a három csoport közötti különbség statisztikailag szignifikáns volt ($P<0,0001$). 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 egészségesektől ($P<0,0001$). A szemfelszín fluoreszcein festődése 9 esetben (23%) volt kóros és a Meibom-mirigyek diszfunkcióját 17 nem Sjögren-szindrómás esetben (38,5%) mutattuk ki. Kilenc beteg (43%) használt műkönny szemcseppet. Gyenge, szignifikáns korrelációt mutattunk ki a könny ozmolaritás és az MGD között ($r=0,373$, $P=0,019$, Spearman). A korreláció erősebb volt az MGD jelenléte és a betegek életkora között ($r=0,511$, $P=0,001$).



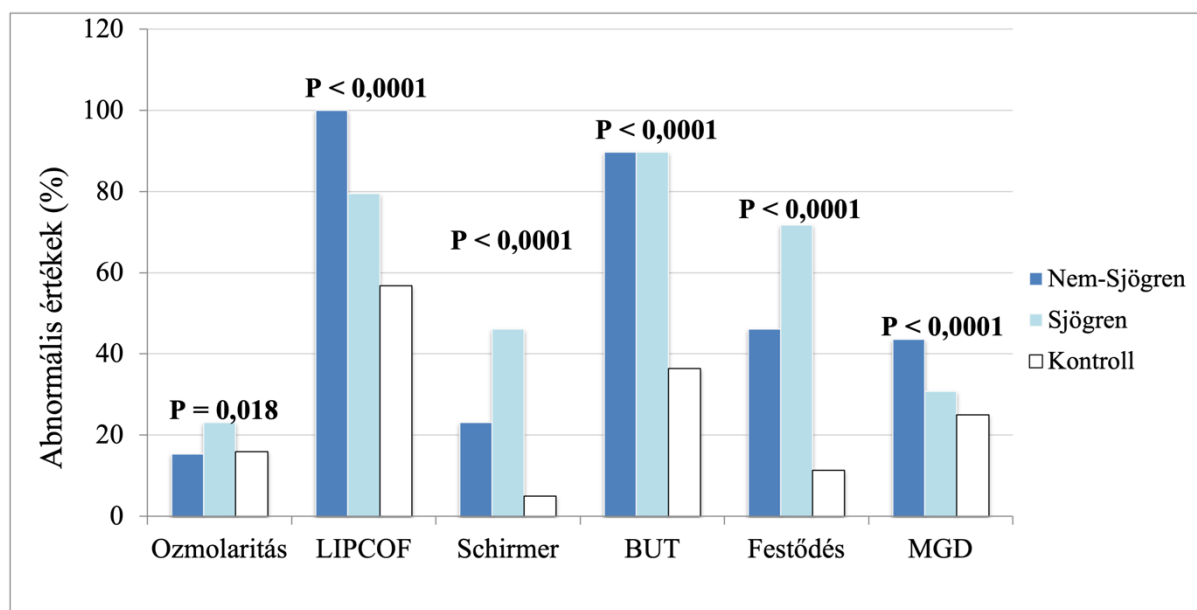
14. ábra. A TearLab rendszerrel mért könny ozmolaritás értékek **(A)** és a könny ozmolaritás mérések eloszlása **(B)** a nem-Sjögren-szindrómás száraz szeműeknél (NSSDE), a Sjögren-szindrómás száraz szeműeknél (SSDE), valamint egészséges egyéneknél.

2. táblázat. A három vizsgálati csoportban végzett száraz szem diagnosztikai vizsgálatok eredményei.

	Nem-Sjögren szindróma	Sjögren szindróma	Normál	P*
<i>Ozmolaritás (mOsm/l)</i>	296,77 ± 16,48 (291,4-302,11)	303,36 ± 17,22 (297,78-308,94)	303,52 ± 12,92 (299,59-307,45)	0,018
<i>LIPCOF</i>	1,67 ± 0,81 (1,41-1,93)	1,36 ± 0,93 (1,06-1,66)	0,68 ± 0,71 (0,47-0,90)	< 0,0001
<i>Schirmer-érték (mm)</i>	15,91 ± 11,18 (12,29-19,54)	9,96 ± 8,64 (7,16-12,76)	25,01 ± 8,5 (22,29-27,73)	< 0,0001
<i>BUT érték (mp)</i>	4,97 ± 3,62 (3,8-6,15)	3,31 ± 1,91 (2,66-3,97)	12,03 ± 6,11 (10,17-13,88)	< 0,0001

Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Kruskal-Wallis varianciaanalízis a 3 csoport között



15. ábra. A száraz szem diagnosztikai tesztek kóros eredményeinek százalékos aránya a nem-Sjögren-szindrómás, a Sjögren-szindrómás és a kontrollcsoportban.

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 ($P < 0,0001$). A Meibom-mirigyek működési zavarát 12 esetben (31%) észleltük. A 2. csoportban minden beteg arról számolt be, hogy az előző időszakban mesterséges könnypótlást használt. A könny ozmolaritása nem mutatott szignifikáns korrelációt az elvégzett száraz szem vizsgálatok egyikével sem ($P > 0,05$). Szignifikáns korreláció mutatkozott a LIPCOF és az MGD eredményei között ($r = 0,645$, $P < 0,0001$), valamint a betegek életkora és a Schirmer-pontszám között ($r = 0,361$, $P = 0,024$).

Az 1. és a 2. csoport között csak a könny ozmolarításában ($P = 0,03$, Mann-Whitney), a BUT ($P < 0,0001$) és az MGD ($P = 0,002$) tekintetében mutatkozott szignifikáns különbség, a

LIPCOF-pontszám ($P=0,151$), a szemfelszín festődése ($P=0,309$) és a Schirmer-érték ($P=0,782$) tekintetében nem találtunk szignifikáns eltérést.

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 (3. táblázat).

3. táblázat. A receiver operating characteristic (ROC) görbe elemzés eredménye.

	AUROC (95% KI)	SE	Értékhatar	Szenzitivitás †	Specificitás†	PPV†	NPV†
LIPCOF	0,762* (0,676 – 0,834)	0,0482	≥ 1	89,74 (80,8 – 95,5)	43,18 (28,4 – 59,0)	73,7 (63,6 – 82,2)	70,4 (49,4 – 86,5)
Schirmer érték	0,809* (0,727 – 0,876)	0,0454	≤ 5 mm/5 mp	34,62 (24,2 – 46,2)	95,0 (83,0 – 99,2)	93,1 (77,2 – 99,0)	42,7 (32,3 – 53,6)
BUT érték	0,881* (0,808 – 0,933)	0,0358	≤ 10 mp	95,95 (88,6 – 99,1)	54,55 (38,9 – 69,6)	78,0 (68,1 – 86,0)	88,9 (70,8 – 97,5)

AUROC=ROC görbe alatti terület; SE=Standard hiba; PPV=Pozitív prediktív érték; NPV=Negatív prediktív érték; 95% KI=95% konfidencia intervallum

† Értékek %-ban (95% KI)

* $P<0,0001$

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). Az SSc-s betegek klinikai jellemzőit a 4. táblázat részletezi. A nemek között nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a mért paraméterek egyikében sem (a P érték 0,075 és 0,962 között mozgott). 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. A szisztémás szklerózisban szenvedő betegek és az egészségesek között nem volt szignifikáns különbség a centrális szaruhártya vastagságában ($P=0,124$).

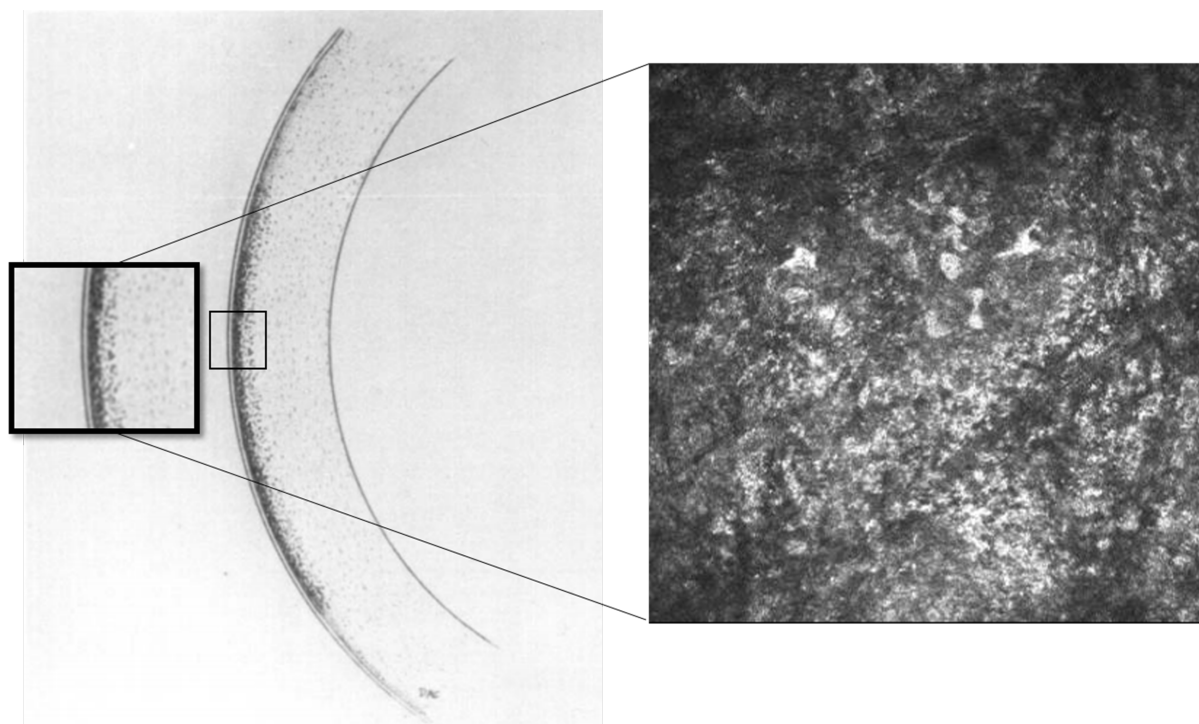
4. táblázat. Szisztémás szklerózisban (SSc) szenvedő betegek klinikai jellemzői.

	SSc betegek†	
	Jobb szem	Bal szem
<i>Legjobban korrigált látóélesség</i>	0,91±0,16 (0,84 - 0,98)	0,89±0,18 (0,81 - 0,97)
<i>Szemnyomás (Hgmm)</i>	14,31±3,32 (13,05 - 15,57)	14,00±3,10 (12,82 - 15,18)
<i>Anterior K1 (D)</i>	43,86±2,58 (43,46 - 44,26)	43,22±4,45 (41,61 - 44,82)
<i>Anterior K2 (D)</i>	44,77±1,19 (44,34 - 45,19)	45,02±1,47 (44,49 - 45,55)
<i>Poszterior K1 (D)</i>	-6,15±0,28 (-6,25 - -6,05)	-6,23±0,25 (-6,32 - -6,14)
<i>Poszterior K2 (D)</i>	-6,50±0,27 (-6,59 - -6,40)	-6,57±0,27 (-6,67 - -6,47)
<i>Cornea térfogat (mm³)</i>	57,96±3,30 (56,77 - 59,15)	60,00±5,43 (58,05 - 61,97)
<i>Elülső csarnok mélység (mm)</i>	3,22±0,72 (2,96 - 3,48)	3,17±0,75 (2,90 - 3,44)
<i>OSDI pontszám</i>		33,27±30,11 (22,42 - 44,13)
<i>Schirmer (mm)</i>	6,78±5,82 (4,68 - 8,87)	6,25±5,73 (4,19 - 8,31)
<i>BUT (másodperc)</i>	4,82±3,15 (3,70 - 5,93)	5,09±3,41 (3,88 - 6,30)

†Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

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 ($P=0,156$, $P=0,095$, $P=0,391$) (5. táblázat). 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 elszórtan hiperreflektív pontszerű depozitumot figyeltünk meg az elülső stromában, csak néhány normális keratocita sejtmaggal (16-17. ábra). Három SSc-betegnél a hátsó stromában hiperreflektív anyag felhalmozódását mutattuk ki. Ezenkívül öt szisztémás szklerózisos betegnél a Descemet-membrán/endotelium szintjében is hasonló

pontszerű elváltozások voltak megfigyelhetők (17. ábra). Egy SSc-s betegnél 29 éve tartó betegségben a bazális hámban spirálszerű, hiperreflektív, extracelluláris anyagot találtunk, néhány aktivált keratocitával és az elülső stromában felhalmozódott pontszerű depozitumokkal (18. ábra). Az egészséges csoportban a fent említett elváltozások egyike sem volt megfigyelhető. Az SSc-betegek jobb és bal szeme között nem volt szignifikáns különbség a szaruhártya sejtsűrűségének egyik paraméterében sem ($P=0,052-0,748$). Nem találtunk szignifikáns összefüggést a szisztémás szklerózis időtartama és a szaruhártya sejtsűrűségének egyik értéke között sem ($P > 0,05$).



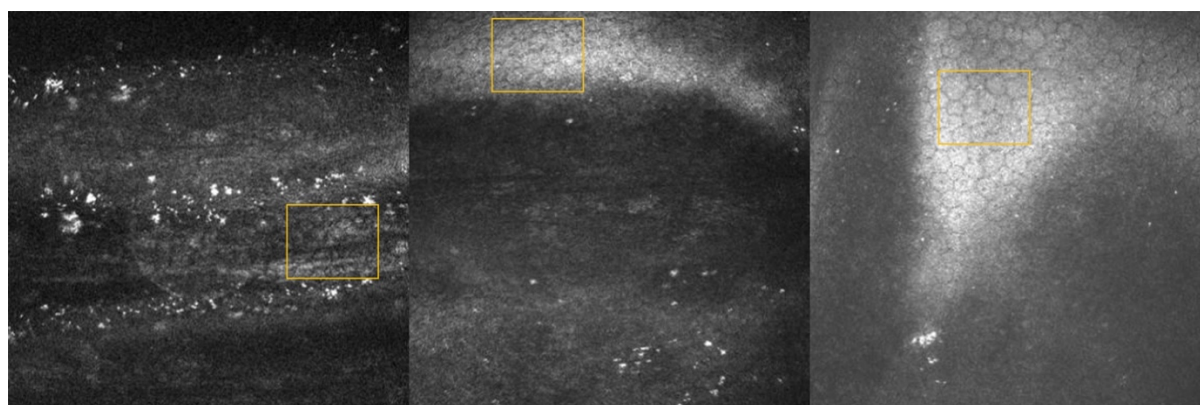
16. ábra. Cockburn 1984-es rajza, amely a "szisztémás szkleroderma" elülső stroma elváltozásainak réslámpás, keskeny sugárnyalábos metszetét mutatja be, valamint egy reprezentatív in vivo konfokális mikroszkópos felvétel egy szisztémás szklerózisban szenvedő betegünk elülső strómájáról. (Reprodukálva a Cockburn DM. Corneal and Other Ocular Changes in Progressive Systemic Scleroderma engedélyével. Clin Exp Optom 1984;67:37-70).

5. táblázat. A szaruhártya mikroszerkezeti változásai és a szubbazális idegi plexus morfológiája egészséges személyeknél és szisztémás szklerózisban (SSc) szenvedő betegek esetén.

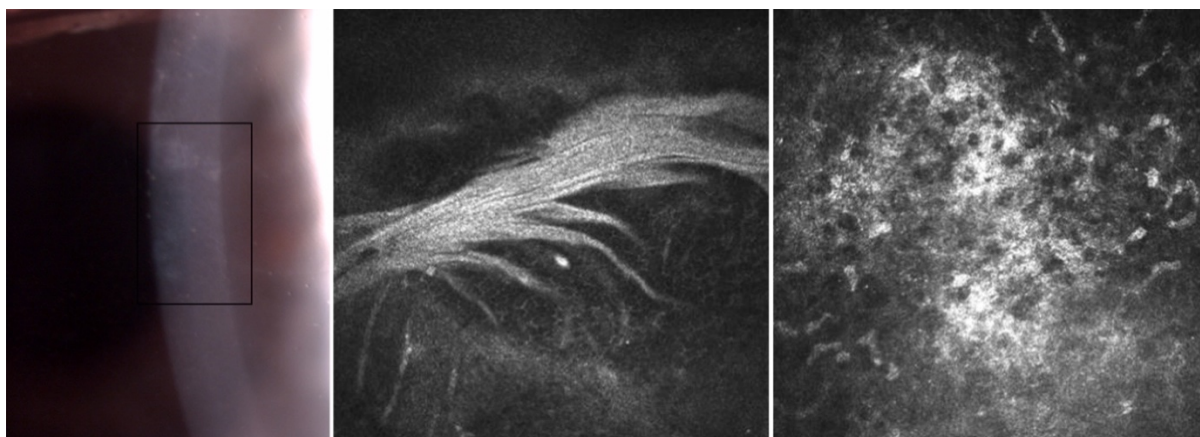
	Egészséges egyének†	SSc betegek†	P*
<i>Centrális cornea vastagság (μm)</i>	517,83±50,31 (505,47 - 530,20)	513,75±54,87 (499,20 - 528,31)	0,124
<i>Epiteliális sejt sűrűség (sejt/mm²)</i>	7629,67±886,95 (7433,55 - 7825,79)	7407,28±999,13 (7201,511 - 7613,05)	0,156
<i>Anterior stroma keratocita sejt sűrűség (sejt/mm²)</i>	229,58±36,10 (221,60 - 237,56)	187,93±79,29 (170,83 - 205,03)	< 0,0001
<i>Poszterior stroma keratocita sejt sűrűség (sejt/mm²)</i>	238,97±29,95 (232,08 - 245,86)	230,67±45,34 (220,09 - 241,25)	0,095
<i>Endotelsejt sűrűség (sejt/mm²)</i>	2871,02±298,89 (2797,54 - 2944,49)	2733,93±541,46 (2590,26 - 2877,60)	0,391
<i>Idegrost denzitás (No/mm²)</i>	16,63±8,78 (14,91 - 18,34)	10,78±14,42 (7,49 - 13,91)	< 0,0001
<i>Idegrost elágazódás denzitás (No/mm²)</i>	18,62±16,99 (15,31 - 21,95)	10,70±7,59 (8,99 - 17,09)	0,0002
<i>Idegrost hossz (mm/mm²)</i>	11,57±3,88 (10,81 - 12,33)	9,02±3,92 (8,15 - 9,90)	< 0,0001
<i>Teljes elágazódás denzitás (No/mm²)</i>	32,34±23,60 (27,72 - 36,95)	23,44±21,96 (18,55 - 28,32)	0,005
<i>Idegrost terület (mm²/mm²)</i>	0,0054±0,0021 (0,0049 - 0,0058)	0,0040±0,0016 (0,0037 - 0,0044)	< 0,0001
<i>Idegrost szélesség (mm/mm²)</i>	0,021±0,0016 (0,0211 - 0,0215)	0,022±0,0022 (0,0214 - 0,0224)	0,023

†Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Mann-Whitney U teszt

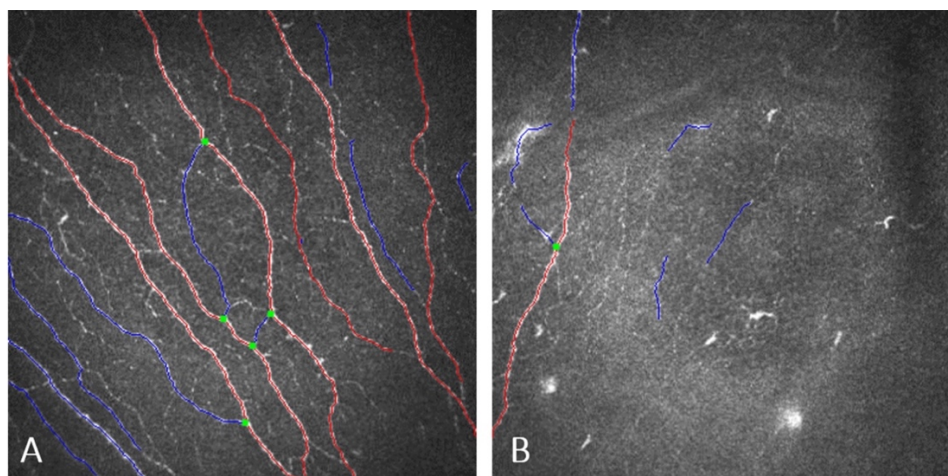


17. ábra. In vivo konfokális mikroszkópiás felvétel három szisztémás szklerózisban szenvedő betegről (a betegség időtartama 29, 23, illetve 17 év, balról jobbra), akiknél a Descemet-membrán/endotelium szintjén pontszerű hiperreflektív anyag halmozódott fel. A sárga négyzetben jelöltük a normális endotelsejteket.



18. ábra. Réslámpás (balra) és in vivo konfokális mikroszkópos felvételek egy régóta fennálló szisztémás szklerózisos betegről. A bazális hámban pórusszerű, hiperreflektív, extracelluláris anyagot (középen) detektáltunk és az elülső stromában felhalmozódott, granuláris elváltozásokkal rendelkező aktivált keratocitákat látunk (jobbra).

Szignifikánsan károsodott szubbazális idegrost paramétereket észleltünk az SSc-s betegeknél az egészséges személyekhez képest (19. ábra, 5. táblázat). 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. A betegek OSDI-pontszámuk alapján történő alcsoport besorolása után a négy csoport között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség egyik idegrost paraméterben sem ($P=0,103-0,969$).

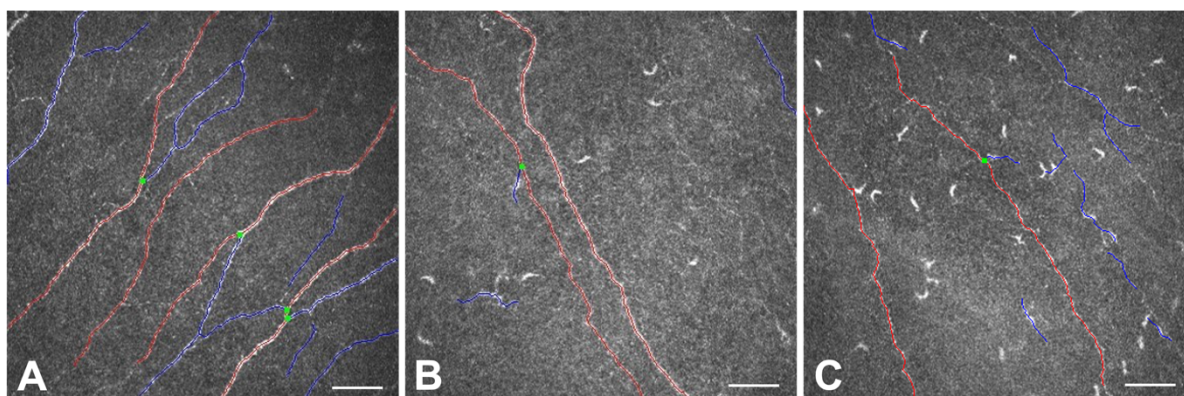


19. ábra. A szubbazális idegplexus annotált képe az ACCMetrics szoftver segítségével (piros, rost; kék, elágazás; zöld, elágazási pont). (A) Egészséges egyén normál idegrost morfológiája. (B) Huszonkilenc éve szisztémás szklerózisban szenvedő beteg csökkent idegrost sűrűsége és megváltozott morfológiája.

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 kontrollokhoz képest nem adódott szignifikáns különbség az NFD, NBD, NTBD és FD esetében ($P>0,05$) (6. táblázat). Azonban a szaruhártya dendritikus sejtsűrűségének ($P<0,0001$) és DC területének ($P<0,0001$) szignifikáns növekedését találtuk a migrénes betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest (6. táblázat, 20. 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 ($r=-0,233$, $P=0,039$).



20. ábra In vivo konfokális mikroszkópiás kép a szaruhártya szubbazális idegplexusáról. **A:** Normális idegrost morfológia egy 41 éves egészséges nőnél. **B:** Jobb szem (nem domináns oldal). **C:** Bal szem (domináns oldal) csökkent idegrostsűrűséggel, megváltozott morfológiával és elszórt dendritikus sejtekkel egy 41 éves betegnél, aki 21 éve szenved epizódikus migrénben, havi 5 rohamszámmal. A méretarányos sáv $50 \mu\text{m}$.

6. táblázat. A szubbazális idegi plexus morfológiája epizódikus migrénben szenvedő betegeknél egészséges önkéntesekkel összehasonlítva.

	Egészséges egyének§	Migrénben szenvedők§	P*
<i>Idegrost denzitás (No/mm²)</i>	18,041±7,107 (15,107 – 20,974)	16,827±9,262 (14,041 – 19,985)	0,523
<i>Idegrost elágazódás denzitás (No/mm²)</i>	19,186±10,311 (14,930 – 23,442)	17,013±13,694 (16,659 – 27,213)	0,233
<i>Idegrost hossz (mm/mm²)</i>	11,923±3,105 (10,641 – 13,204)	11,965±4,094 (11,077 – 12,854)	0,805
<i>Teljes elágazódás denzitást (No/mm²)</i>	33,581±18,323 (26,018 – 41,144)	29,661±18,667 (25,610 – 33,712)	0,326
<i>Idegrost terület (mm²/mm²)</i>	0,005±0,002 (0,004 – 0,006)	0,005±0,002 (0,005 – 0,006)	0,455
<i>Idegrost szélesség (mm/mm²)</i>	0,022±0,002 (0,021 – 0,022)	0,022±0,002 (0,021 – 0,022)	0,610
<i>Fraktális dimenzió</i>	1,461±0,036 (1,446 – 1,477)	1,458±0,054 (1,446 – 1,470)	0,652
<i>Dendritikus sejt-sűrűség (sejt/mm²)</i>	24,64±41,046 (7,697 – 41,583)	82,289±60,633 (69,050 – 95,529)	< 0,0001
<i>Dendritikus sejt-terület (µm²)</i>	34,161±8,367 (30,707 – 37,615)	47,222±9,538 (45,086 – 49,359)	< 0,0001

§ Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Mann-Whitney U test

Az OSDI pontszám nem mutatott szignifikáns különbséget a kontroll és a migrénes csoport között (P=0,499) (7. táblázat). A könnyfilm paramétereit LacryDiaggal elemezve a Meibom-mirigyek területének szignifikánsan nagyobb veszteségét mutattuk ki a felső szemhéjon (P=0,005) (7. táblázat) a migrénes betegeknél. A többi vizsgált könnyfilm-paraméterben (LTMH, INT, NIBUT) nem találtunk szignifikáns különbséget a migrénes betegeknél (7. táblázat).

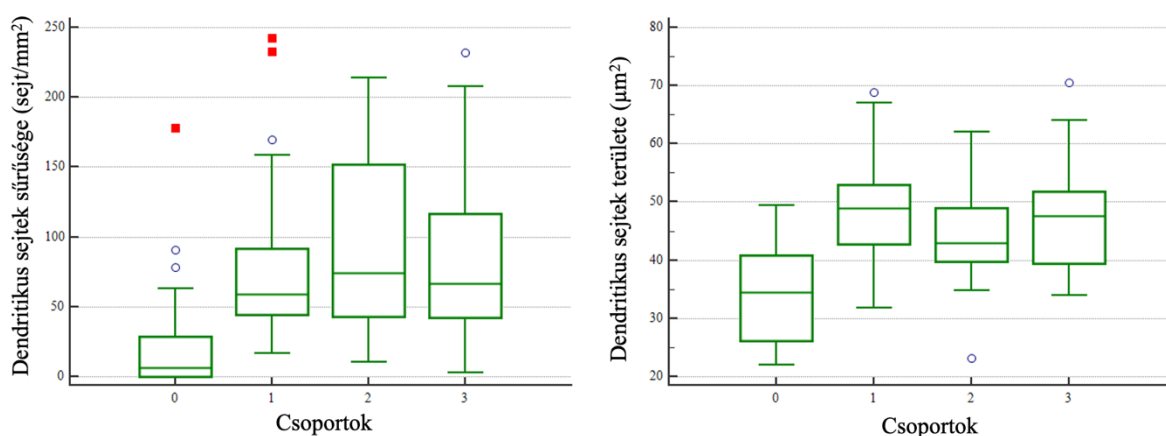
7. táblázat. Könnyfilm paraméterek epizódikus migrénben szenvedő betegeknél egészséges önkéntesekkel összehasonlítva.

	Egészséges egyének§	Migrénben szenvedők§	P*
<i>Ocular Surface Disease Index</i>	12,070±7,139 (9,352 – 14,780)	12,570±12,910 (9,175 – 15,960)	0,499
<i>Alsó könny meniszkusz magasság (mm)</i>	0,220±0,072 (0,191 – 0,250)	0,226±0,103 (0,201 – 0,251)	0,764
<i>Szuperior meibográfia (%)</i>	6,087±9,405 (2,020 – 10,150)	9,638±5,327 (8,358 – 10,917)	0,005
<i>Interferometria</i>	3,160±1,214 (2,659 – 3,661)	3,667±1,492 (3,316 – 4,017)	0,181
<i>Non-invazív BUT (másodperc)</i>	10,288±3,107 (8,976 – 11,599)	10,877±3,957 (9,854 – 11,899)	0,224

§ Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Mann-Whitney U test

A betegség időtartamára vonatkozó alcsoport-elemzésünkben az ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a dendritikus sejtek sűrűségében ($P < 0,001$) és a dendritikus sejtek területében ($P < 0,001$) (21. ábra). A Post-hoc Tukey-Kramer teszt szignifikáns különbséget tárt fel az egészséges csoport és az egyes migrénes csoportok között. A dominánsan érintett oldalt a kontralaterális oldallal összehasonlítva a vizsgált paraméterek egyike sem mutatott szignifikáns különbséget. A nemek szerinti alcsoport-elemzés sem jelzett szignifikáns különbséget a DC terület, DC sűrűség és az összes idegrost paraméter tekintetében.



21. ábra. A migrén betegség időtartamára vonatkozó alcsoport-elemzés (0. csoport: egészséges kontrollok, 1. csoport: 0-10 év, 2. csoport: 10-20 év, 3. csoport: >20 év migrénes időtartam) valamennyi migrénes alcsoportban szignifikánsan növekedett DC sűrűséget (balra) és DC területet (jobbra) mutatott (ANOVA, $P < 0,001$).

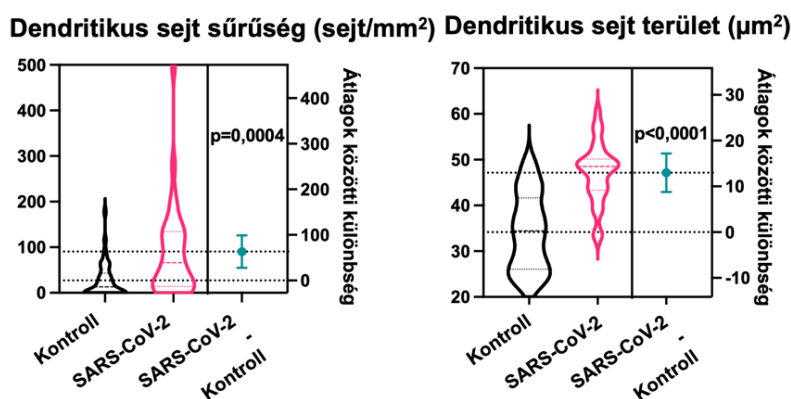
A száraz szem lehetséges zavaró hatását kiszűrve a szaruhártya-paraméterekben a migrénes és a kontrollcsoport között talált különbségeket többszörös lineáris regresszió segítségével elemezve egyik kovariáns (OSDI, NIBUT) sem volt szignifikáns hatással a kapott eredményekre.

2. Szisztémás betegségek szemészeti mikrovaskuláris és neurodegeneratív eltérései

2.1 COVID-19 betegség

Harminc SARS-CoV-2 fertőzésen átesett 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 között átlagosan $13,93 \pm 6,13$ hét telt el (3 és 26 hét között). A SARS-CoV-2 fertőzés során egyetlen beteg sem szorult kórházi kezelésre. A betegség lefolyása során minden betegnél enyhe tünetek jelentkeztek, beleértve az anosmia, dysgeusia, köhögés, láz, fáradtság, ízületi és izomfájdalmak. A betegek egyike sem számolt be szemészeti panaszokról, kivéve a már meglévő szemszárazság enyhe romlását. A réslámpás vizsgálat nem mutatott ki semmilyen szemfelszíni és elülső szegmentum rendellenességet, szemfelszíni fluoreszcein festődést egyik alanynál sem észleltünk.

A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a corneális hámsejtek ($P=0,091$), az endotelsejtek ($P=0,519$) és az elülső stromális keratociták sűrűségében ($P=0,693$) (8. táblázat). 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 ($P=0,0004$) (22. ábra). A dendritikus sejtek területe szignifikánsan különbözött a két csoport között ($P<0,0001$) (22. ábra). A SARS-CoV-2 fertőzést követően hiperreflektív, kerek, dendrit nélküli gyulladásosejtek is azonosítottunk (23. ábra). A két vizsgáló között egyik csoportban sem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget ($P=0,114 - 0,966$).



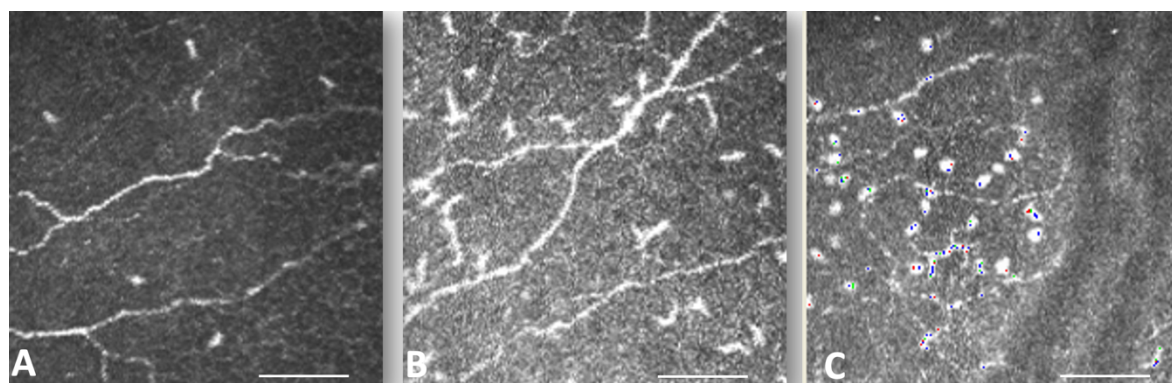
22. ábra. A dendritikus sejtek sűrűségének és területének különbségeit bemutató diagram a kontroll egyének és a SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegek között.

8. táblázat. Szaruhártya mikrostrukturális eltéréseinek összehasonlítása egészséges egyéneknél és SARS-CoV-2 fertőzésen átesetteknél.

	Egészséges egyének §	SARS-CoV-2 fertőzésen átesettek §	P*
Dendritikus sejtek sűrűsége (sejt/mm ²)	27,049± 38,316 (14,955 – 39,143)	90,367± 105,325 (51,038 – 129,696)	0,0004
Dendritikus sejtek területe (μm ²)	34,161±8,367 (30,707-37,615)	47,139±6,539 (44,498-49,780)	<0,0001
Epitelsejtek sűrűsége (sejt/mm ²)	8147,677± 1069,327 (7796,198 – 8499,156)	7631,158± 1065,082 (7117,805 – 8144,511)	0,091
Elülső stroma keratocita denzitás (sejt/mm ²)	281,932± 82,186 (254,918 – 308,946)	273,48± 83,566 (238,986 – 307,974)	0,693
Hátsó stroma keratocita denzitás (sejt/mm ²)	251,195± 36,514 (238,840 – 263,550)	190,667± 77,541 (141,399 – 239,934)	0,0006
Endotelsejtek sűrűsége (sejt/mm ²)	3116,551± 537,523 (2931,905 – 3301,196)	2937,0± 313,080 (2438,819 – 3435,181)	0,519

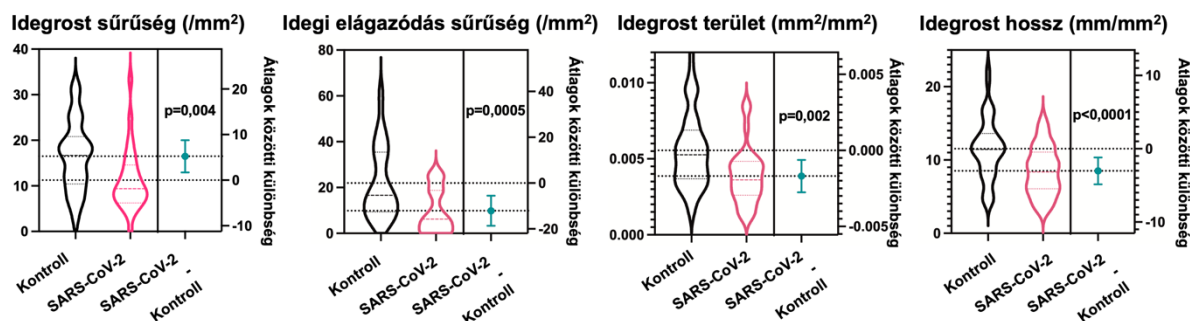
§ Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Független t-próba



23. ábra. Elszórt dendritikus sejtek a központi bazális hámban egy egészséges önkéntesnél (A). A dendritikus sejtek nagyobb sűrűsége SARS-CoV-2 fertőzést követően (B). Dendritek nélküli, hiperreflektív gyulladásos sejtek SARS-CoV-2 fertőzést követően (C). A méretarányos sáv 50 μm.

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 ($P=0,116$) (9. táblázat, 24. ábra). 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 megszakítottasága és a stromális idegek gyöngyfűzészerű átalakulása (25. ábra).



24. ábra. A szubbazális idegrostok morfológiai paramétereinek különbségeit bemutató diagram a kontroll egyének és a betegek között SARS-CoV-2 fertőzést követően.

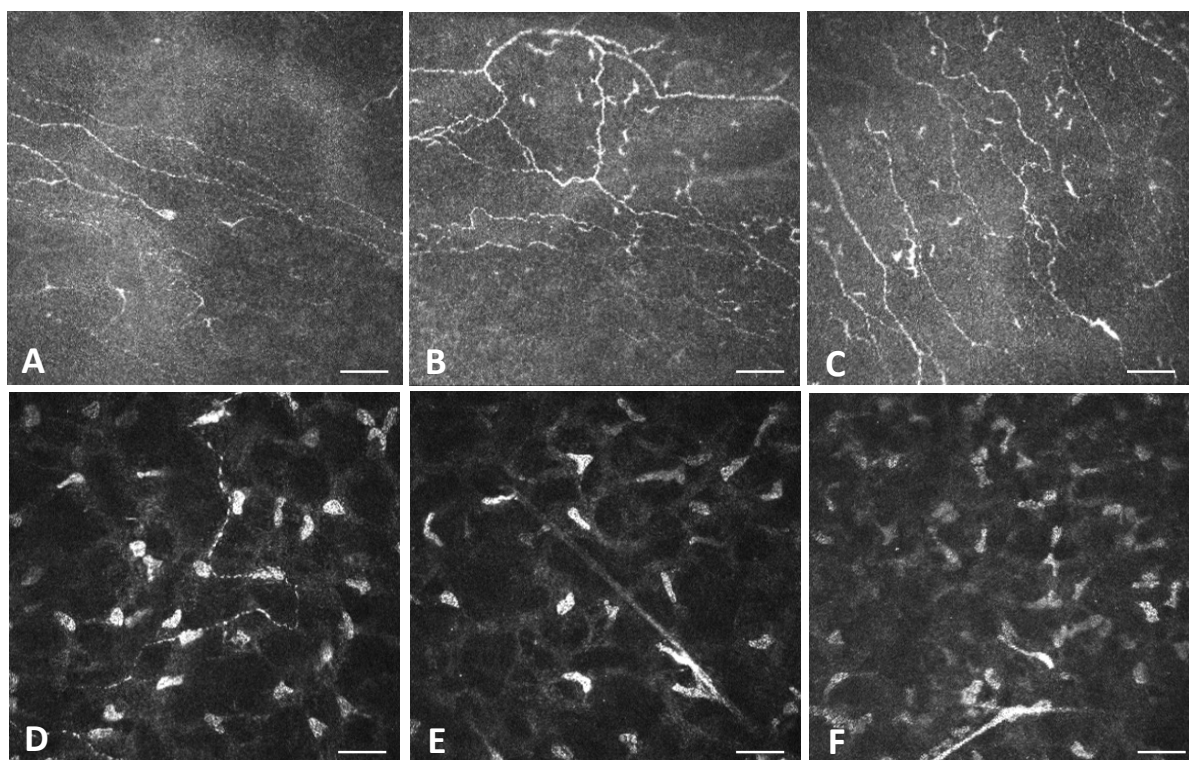
9. táblázat. Szubbazális idegrost morfológia összehasonlítása egészséges egyéneknél és SARS-CoV-2 fertőzésen átesetteknél.

	Egészséges egyének [§]	SARS-CoV-2 fertőzésen átesettek [§]	P*
Idegrost denzitás (No/mm ²)	16,493 ±7,589 (13,999 – 18,987)	11,249 ±6,758 (8,726 – 13,773)	0,0042
Idegrost elágazódás denzitás (No/mm ²)	21,936 ±15,827 (16,659 – 27,213)	9,86 ±9,522 (6,305 – 13,416)	0,0005
Idegrost hossz (mm/mm ²)	11,532 ±4,152 (10,221 – 12,842)	8,509 ±3,358 (7,255 – 9,763)	<0,0001
Teljes idegrost elágazódás sűrűség (No/mm ²)	34,868 ±21,884 (27,961 – 41,776)	22,186 ±18,25 (15,372 – 29,001)	0,008
Idegrost terület (mm ² /mm ²)	0,006±0,002 (0,005 - 0,006)	0,004 ±0,002 (0,003 – 0,005)	0,002
Idegrost szélesség (mm/mm ²)	0,022±0,002 (0,021 - 0,023)	0,023±0,003 (0,022 - 0,024)	0,116

[§] Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Független t-próba, Mann-Whitney U teszt

A dendritikus sejtek száma és az idegrostok teljes elágazódási sűrűsége között statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk ($r=0,479$, $P=0,008$) a COVID-19 után. A dendritikus sejsűrűség és a terület között fordított korrelációt figyeltünk meg ($r=-0,427$, $P=0,030$) a SARS-CoV-2 fertőzést követő betegeknél. Általános szignifikáns korreláció volt az egyes idegrost paraméterek között ($P\leq 0,05$) a COVID-19 után. Az elülső keratocita sűrűség fordított korrelációt mutatott az idegrostok területével ($r=-0,498$, $P=0,011$).

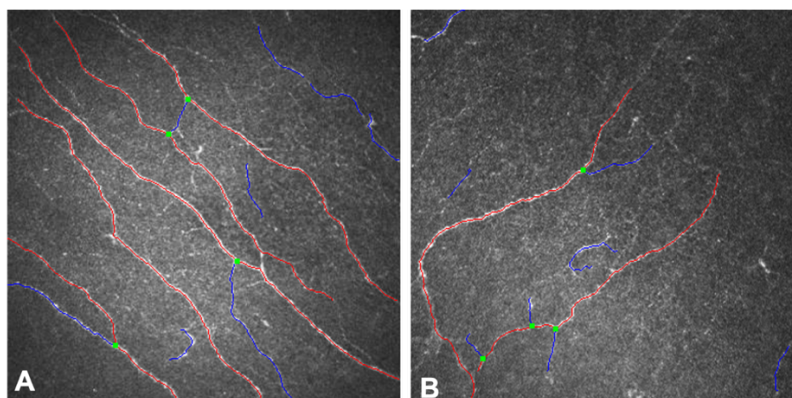


25. ábra. Szaruhártya szubbazális (A-C) és stromális idegrostok (D-E) változásai SARS-CoV-2 fertőzést követően. Csökkent idegsűrűség (A), kanyargósság (B-C) fuziform mikroneuromával (C), gyöngyfűzészerű idegekkel (D) és laterális mikroneuromával (E-F). A méretarányos sáv 50 μm .

A következő, 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). Az aktív és tartós tünetek között 17 betegnél (49%) láz, 13 betegnél (37%) dysgeusia/anosmia, 11 betegnél (31%) fáradtság, 11 betegnél (31%) köhögés, 11 betegnél (31%) ízületi fájdalom, 2 betegnél (6%) álmatlanság, 1 betegnél (3%) depresszió, 1 betegnél (3%) tachycardia/palpitáció szerepelt. A fertőzés során 6 beteg (17%) számolt be szemészeti tünetekről, mint például szemégés, idegentest-érzés, szemgolyó- és szemfájdalom. Három alany (9%) teljesen tünetmentes volt a betegség alatt. A COVID-19 fertőzésen átesett csoportban 6 betegnek jól kontrollált 2-es típusú diabétesz mellitusza volt, 6 betegnek magas vérnyomása (5 betegnek diabétesz mellitusza és magas vérnyomása is volt) és 1 betegnek az ellenoldali szemén korábban vena centralis retinae elzáródása zajlott. Egyetlen betegnél sem volt retinopátia jele a vizsgált szemén.

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a szem biometriai méréseiben az egészséges és a COVID-on átesett vizsgálati személyek között. Szignifikánsan alacsonyabb NBD ($P=0,0004$), NFA ($P=0,0001$), NFD ($P=0,0009$), NFL ($P<0,0001$) és NTBD ($P=0,002$) értékeket figyeltünk meg a COVID-19 fertőzést követően az egészséges kontrollokhoz képest (26. ábra) (10. táblázat). A két csoport között nem állt fenn szignifikáns különbség az NFW értékekben ($P=0,421$).



26. ábra. A szubbazális idegi plexus elemzett képe az ACCMetrics szoftver segítségével (piros: rost, kék: elágazás, zöld: elágazási pont). **(A)** 69 éves egészséges személy normál idegrost morfológiája. **(B)** 69 éves beteg csökkent idegrost sűrűsége és megváltozott morfológiája COVID-19 betegség után.

10. táblázat. A szaruhártya szubbazális idegrost morfológiájának összehasonlítása egészséges egyéneknél és SARS-CoV-2 fertőzésen átesetteknél.

	Egészséges egyének [§]	SARS-CoV-2 infekción átesettek [§]	P*
<i>Idegrost elágazódás denzitás (No/mm²)</i>	23,63±15,940 (17,449 – 29,810)	10,542±11,350 (6,518 – 14,567)	0,0004
<i>Idegrost terület (mm²/mm²)</i>	0,006±0,002 (0,005 – 0,007)	0,004±0,002 (0,003 – 0,004)	0,0001
<i>Idegrost denzitás (No/mm²)</i>	18,57±6,114 (16,200 – 20,941)	11,742±8,649 (8,675 – 14,809)	0,0009
<i>Idegrost hossz (mm/mm²)</i>	12,98±3,141 (11,763 – 14,198)	8,605±3,649 (7,311 – 9,899)	<0,0001
<i>Idegrost szélesség (mm/mm²)</i>	0,022±0,002 (0,021 – 0,022)	0,022±0,002 (0,021 – 0,023)	0,421
<i>Teljes idegrost elágazódás sűrűség (No/mm²)</i>	37,20±20,415 (29,284 – 45,116)	21,937±16,424 (16,113 – 27,760)	0,002

§Átlag ± standard deviáció (95% konfidencia intervallum)

* Független t-próba

A centrális chorioidea vastagsága nagyobb értéket mutatott a normál csoportban, de a két csoport között nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget (P=0,101) (11. táblázat). 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 csoportot tekintve (11. 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 (11. táblázat).

Miután kizártuk a metabolikus betegségben szenvedő betegeket a poszt-COVID csoportból, szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető az NBD (P=0,0002), NFA (P=0,0001), NFD (P=0,0001), NFL (P<0,0001) és NTBD (P=0,0023) esetében. Az NFW nem különbözött szignifikánsan a két csoport között (P=0,206). Az SCP és a DCP VD paramétereiben nem volt statisztikailag szignifikáns különbség (P=0,102 - 0,894), csak a temporális SCP VD-ben találtunk határérték szignifikáns csökkenést (P=0,051) a COVID-19 fertőzés utáni csoportban.

11. táblázat. OCT és OCTA paraméterek összehasonlítása egészséges egyéneknél és SARS-CoV-2 fertőzésen 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>GCL ++ belső gyűrű (μm)</i>	116,454±7,325 (113,556 – 119,351)	114,992±12,067 (110,782 – 119,203)	0,582
<i>GCL ++ külső gyűrű (μm)</i>	108,731±6,822 (106,033 – 111,430)	117,809±65,197 (95,061 – 140,557)	0,475
<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>GCL + belső gyűrű (μm)</i>	90,417±6,189 (87,968 – 92,865)	100,338±40,810 (86,099 – 114,578)	0,216
<i>GCL + külső gyűrű (μm)</i>	67,778±6,402 (65,245 – 70,310)	74,279±34,012 (62,412 – 86,147)	0,332
<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)

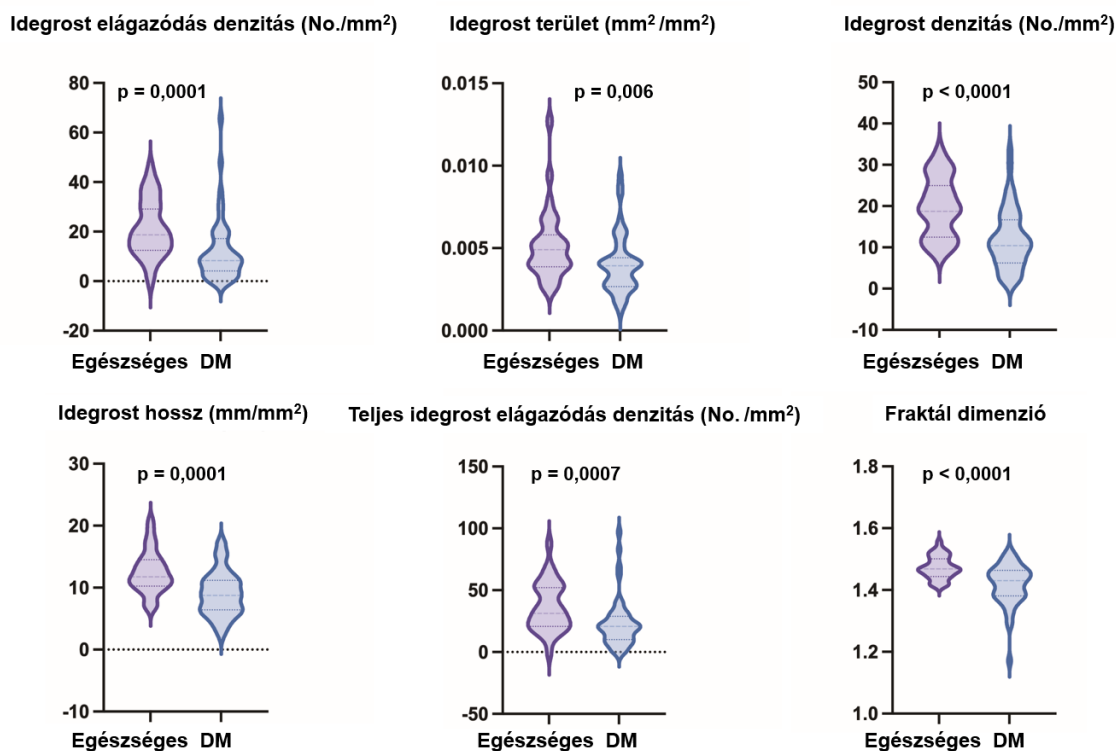
* Független t-próba

Statisztikailag szignifikáns korrelációt állapítottunk meg az NFW és a nazális VD között az SCP ($r=0,618$, $P=0,0001$) és a DCP ($r=0,679$, $P=0,0001$) esetében a normál csoportban. Szignifikáns fordított korreláció volt az NFW és a nazális VD között a DCP-ben ($r=-0,391$, $P=0,027$) a COVID utáni csoportban. A szaruhártya idegrost morfológiája és az OCT angiográfias paraméterek között nem találtunk egyéb statisztikailag szignifikáns korrelációt. Az első pozitív PCR és a szemészeti vizsgálat közötti idő nem mutatott szignifikáns összefüggést egyik mért paraméterrel sem ($P>0,05$).

2.2 Diabétesz mellitusz

Tanulmányunkban az egészséges önkéntesek és a cukorbetegek átlagéletkora $49,88 \pm 17,01$ év (20 és 73 év között), illetve $56,04 \pm 13,66$ év (22 és 78 év között) volt ($P=0,155$). A diabéteszes csoportban a betegség átlagos fennállási ideje $11,17 \pm 11,73$ év volt (1 hónap és 52 év között). Az átlagos HbA1c $7,28\% \pm 1,33\%$ értéket mutatott (5,5% és 13% között). A diabétesz mellituszban szenvedő betegek átlagos testtömegindexe $31,01 \pm 6,28$ volt (21,26 és 47,45 között). T1DM-et 10 betegnél diagnosztizáltak, T2DM-et pedig 42 betegnél találtunk. Egyetlen beteg sem szenvedett közepes vagy súlyos nem proliferatív vagy proliferatív diabéteszes retinopátiában.

A beválogatott vizsgálati alanyok két csoportja között nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a biometriai eredmények egyikében sem, kivéve a centrális szaruhártya vastagságot ($P=0,016$) és a szemlencse vastagságát ($P=0,018$).



27. ábra. A medián és a kvartilisek diagramjai, amelyek a szubbazális idegrost morfológiai adatok gyakorisági eloszlását mutatják egészséges személyek és cukorbetegségben (DM) szenvedő betegek esetében.

A diabétesz mellituszban szenvedő betegeknél a szaruhártya szubbazális idegrostjainak valamennyi paramétere csökkent az egészséges személyekhez képest (27-28. ábra, 12. táblázat) 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.

A centrális retina vastagságában nem állapítottunk meg szignifikáns különbséget a kontroll és a cukorbeteg csoport között ($P=0,089$) (13. táblázat). A központi chorioidea vastagsága alacsonyabb volt a diabétesz mellituszban szenvedő betegeknél ($P=0,016$). 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 (28-29. ábra). A DCP-ben csak a superior VD ($P=0,036$) csökkent szignifikánsan a cukorbeteg csoportban (29. ábra). A GCL

szalaieszter_198_24

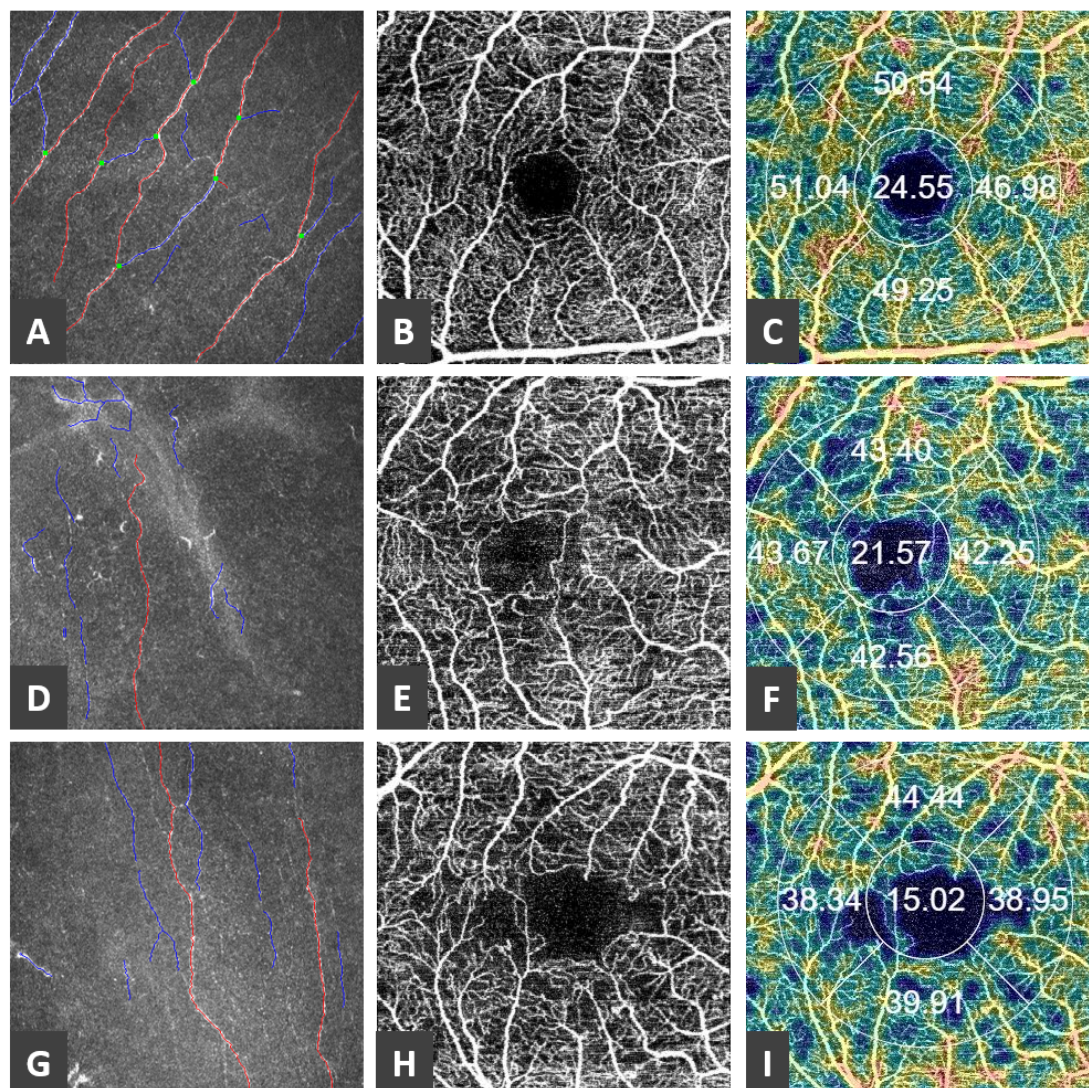
a belső gyűrűben szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott a diabéteszes betegeknél ($P < 0,0001$). Az SCP-ben mért FAZ területének kiszélesedését tapasztaltuk a cukorbeteg csoportban, de a különbség csak határeset szignifikáns volt az egészséges csoporthoz képest ($P = 0,051$). Szignifikáns inverz korrelációt figyeltünk meg a betegség időtartama és az SCP érsűrűsége között a felső ($r = -0,539$, $P < 0,0001$), a temporális ($r = -0,557$, $P < 0,0001$), az 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 ($r = -0,458$, $P = 0,003$). A HbA1C nem mutatott szignifikáns korrelációt egyik OCTA-paraméterrel sem. A vizsgált csoportokban a szubbazális idegrost morfológia és a retina mikrovaszkuláris paramétere között nem volt szignifikáns korreláció.

12. táblázat. Corneális szubbazális idegrost morfológia összehasonlítása egészséges egyéneknél és diabétesz mellitusban szenvedő betegeknél.

	Egészséges egyének [§]	Diabéteszes betegek [§]	P*
<i>Idegrost elágazódás denzitás (No/mm²)</i>	21,252±11,414 (17,065 - 25,439)	12,095±12,663 (8,496 - 15,694)	0,0001
<i>Idegrost terület (mm²/mm²)</i>	0,005±0,002 (0,004 - 0,006)	0,004±0,002 (0,004 - 0,005)	0,006
<i>Idegrost denzitás (No/mm²)</i>	19,723±7,216 (17,076 - 22,370)	12,016±7,192 (9,972 - 14,060)	<0,0001
<i>Idegrost hossz (mm/mm²)</i>	12,489±3,389 (11,245 - 13,732)	9,041±3,584 (8,022 - 10,059)	0,0001
<i>Idegrost szélesség (mm/mm²)</i>	0,022±0,002 (0,021 - 0,022)	0,021±0,002 (0,021 - 0,022)	0,586
<i>Teljes idegrost elágazódás sűrűség (No/mm²)</i>	36,49±19,740 (29,249 - 43,730)	22,965±19,625 (17,388 - 28,542)	0,0007
<i>Idegrost fraktál dimenzió</i>	1,473±0,036 (1,460 - 1,486)	1,418±0,066 (1,399 - 1,437)	<0,0001

[§]Átlag±standard deviáció (95%)

* Mann-Whitney U-teszt



28. ábra. A szubbazális idegplexus elemzett képe in vivo konfokális mikroszkópiával (**A, D, G**). Optikai koherencia tomográfia angiográfia (OCTA) a foveára centrálva, amely a foveális avaszkuláris zónát (FAZ) mutatja (**B, E, H**). Érsűrűség (VD) térkép a felületes kapilláris plexusban négy kvadránsban (**C, F, I**). Normál idegrost morfológia (**A**), OCTA (**B**) és VD-térkép (**C**) egy egészséges önkéntesről. Megváltozott idegrost morfológia (**D**), károsodott FAZ-cirkularitás (**E**) és csökkent VD (**F**) egy 40 éve 1-es típusú diabétesz mellituszban szenvedő, retinopátia nélküli (HbA1c: 7,67%), 44 éves betegnél. Szubbazális idegrost károsodás (**G**), megnagyobbodott FAZ (**H**) és csökkent VD (**I**) egy 10 éve 2-es típusú diabétesz mellituszban szenvedő, retinopátia nélküli, 49 éves betegnél (HbA1c: 9,11%).

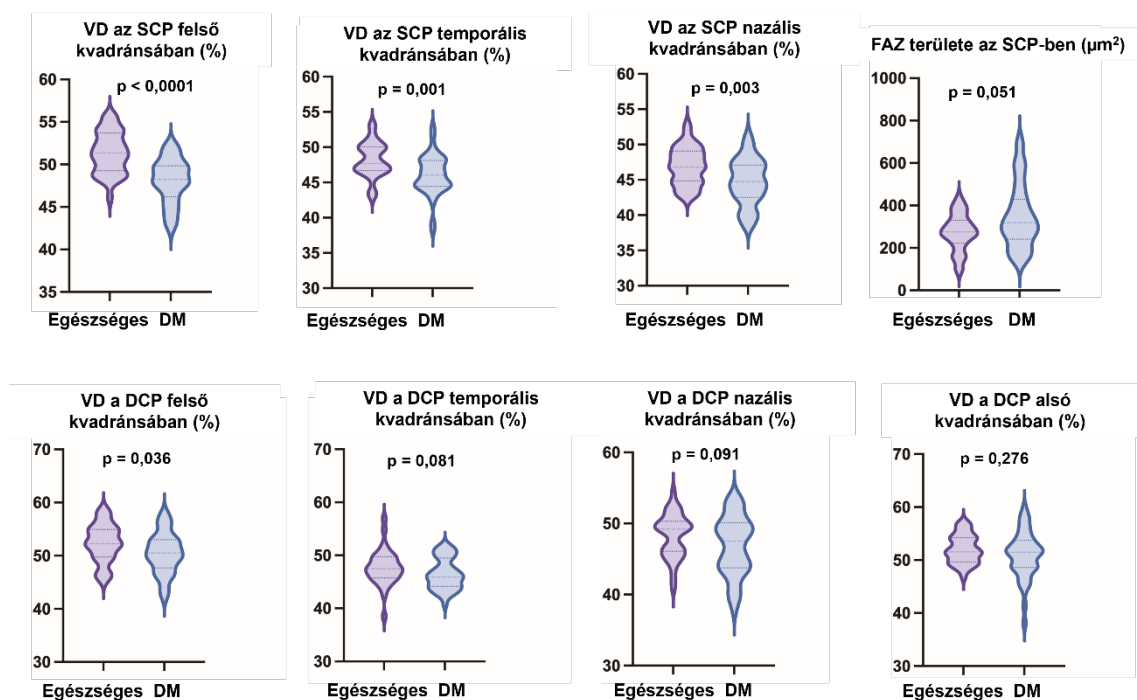
13. táblázat. OCT és OCTA paraméterek összehasonlítása egészséges egyéneknél és diabétesz mellituszban szenvedő betegeknél.

	Egészséges egyének [§]	Diabéteszes betegek [§]	P*
<i>Centrális retina vastagság (μm)</i>	259,029±18,978 (252,408 – 265,651)	251,0±24,491 (244,182 – 257,818)	0,089
<i>Centrális chorioidea vastagság (μm)</i>	273,455±72,974 (247,579 - 299,330)	237,708±81,935 (213,917 - 261,500)	0,016
<i>VD az SCP centrumában (%)</i>	21,649±5,442 (19,780 - 23,519)	19,88±5,219 (18,274 - 21,486)	0,116
<i>VD az SCP felső kvadránsában (%)</i>	51,377±2,449 (50,535 - 52,218)	48,063±2,645 (47,239 - 48,887)	<0,0001
<i>VD az SCP temporális kvadránsában (%)</i>	48,207±2,456 (47,364 - 49,051)	46,069±2,786 (45,212 - 46,927)	0,001
<i>VD az SCP alsó kvadránsában (%)</i>	50,990±3,067 (49,920 – 52,061)	49,147±3,910 (47,929 - 50,366)	0,138
<i>VD az SCP nazális kvadránsában (%)</i>	46,937±2,689 (46,013 - 47,861)	44,691±3,307 (43,674 - 45,709)	0,003
<i>FAZ területe az SCP-ben (μm²)</i>	274,722±86,541 (244,036 - 305,408)	348,511±151,528 (301,292 - 395,731)	0,051
<i>VD a DCP centrumában (%)</i>	19,317±4,632 (17,647 - 20,988)	17,843±5,460 (16,142 - 19,545)	0,236
<i>VD a DCP felső kvadránsában (%)</i>	52,359±3,596 (51,124 - 53,594)	50,483±3,890 (49,255 - 51,710)	0,036
<i>VD a DCP temporális kvadránsában (%)</i>	47,673±3,302 (46,539 - 48,808)	46,485±2,943 (45,568 - 47,402)	0,081
<i>VD a DCP alsó kvadránsában (%)</i>	52,072±2,684 (51,150 - 52,994)	50,924±4,420 (49,529 - 52,319)	0,276
<i>VD a DCP nazális kvadránsában (%)</i>	48,345±3,054 (47,296 - 49,394)	46,855±4,166 (45,557 - 48,154)	0,091
<i>GCL ++ a centrumban (μm)</i>	60,379±11,723 (56,291 – 64,472)	64,901±22,679 (58,310 - 71,475)	0,598
<i>GCL ++ belső gyűrű (μm)</i>	116,904±7,699 (114,218 - 119,591)	109,224±9,628 (106,428 - 112,020)	<0,0001
<i>GCL ++ külső gyűrű (μm)</i>	108,794±6,920 (106,380 - 111,208)	104,972±10,129 (102,031 - 107,913)	0,037
<i>GCL+ a centrumban (μm)</i>	53,235±9,433 (49,944 - 56,526)	55,042±15,612 (50,509 - 59,575)	0,595
<i>GCL + belső gyűrű (μm)</i>	90,941±6,326 (88,734 - 93,148)	83,76±8,009 (81,435 - 86,086)	<0,0001
<i>GCL + külső gyűrű (μm)</i>	67,36±6,803 (64,987 - 69,734)	64,86±5,894 (63,129 - 66,590)	0,152
<i>RNFL vastagság (μm)</i>	106,667±12,504 (102,233 - 111,100)	101,848±10,556 (98,713 - 104,982)	0,060

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)

* Mann-Whitney U-teszt



29. ábra. Az érsűrűség (VD) adatainak gyakorisági eloszlását mutató medián és kvartilis „hegedű diagramok” a felületes (SCP) és mély kapilláris plexus (DCP), valamint a foveális avaszkuláris zóna (FAZ) területén egészséges személyeknél és diabétesz mellitusban (DM) szenvedő betegeknél.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus 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 (16/21), epithelioidnak 14%-ban (3/21) és orsósejtesnek 10%-ban (2/21). Az átlagos legnagyobb tumor átmérő $14,04 \pm 7,11$ mm (95% KI: 10,81 - 17,28) és a tumor átlagos prominenciája $8,18 \pm 5,00$ mm (95% KI: 5,90 - 10,45) volt. Peripapilláris lokalizációt 86%-ban (18/21) találtunk, a sugártest az esetek 19%-ában (4/21) volt érintett és 1 esetben diffúz daganatnövekedést dokumentáltunk. Az esetek 67%-ában (14/21) a tumor áttörte a Bruch-membránt és 43%-ban (9/21) retinainváziót észleltünk. A melanomasejtek üvegtestbe

szalaieszter_198_24

történő invázióját 2 esetben figyeltük meg és 10%-ban (2/21) üvegtesti vérzést is találtunk. Az esetek 24%-ában (5/21) a tumor nekrotizált és 40 nagy nagyítású látótérben 0-5 mitotikus alak volt jelen a daganatokban.

A látóideg invázió négy típusát azonosítottuk, amint azt a 14. táblázat szemlélteti. Transzvitreális inváziót 10%-ban (2/21), retinális inváziót 23%-ban (5/21), direkt peripapilláris inváziót 57%-ban (12/21) és kombinált mechanizmust 10%-ban (2/21) észleltünk (30. ábra). Sclerális invázió 91%-ban (19/21), emisszária invázió 33%-ban (7/21) és extrasclerális kiterjedés a minták 29%-ában (6/21) volt jelen. Vortex véna inváziót 14%-ban (3/21) figyeltünk meg. Emelkedett szemnyomásról 4 betegnél (19%) számoltunk be. Egy beteget korábban transzpupilláris termoterápiával kezeltünk, két betegnél pedig korábbi plakk brachyterápia történt.

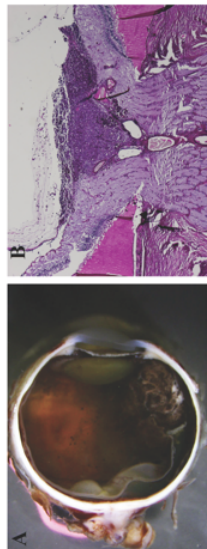
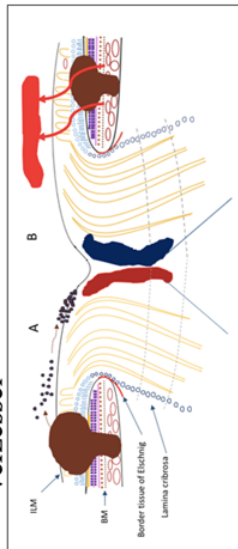
14. táblázat. A primer chorioidea melanoma látóideg inváziójának mechanizmusai.

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

Az esetek 57%-ában (12/21) közvetlen peripapilláris látóideg-inváziót figyeltünk meg. 43%-ban (9/21) más mechanizmusok játszottak szerepet, beleértve a transzvitreális terjedést és/vagy a retina inváziót. A látóideg invázió 75%-ban (9/12) és 56%-ban (5/9) prelamináris, 8%-ban (1/12) és 11%-ban (1/9) lamináris, 17%-ban (2/12) és 33%-ban (3/9) retrolamináris volt a peripapilláris és a transzvitreális/retinális inváziós csoportokban.

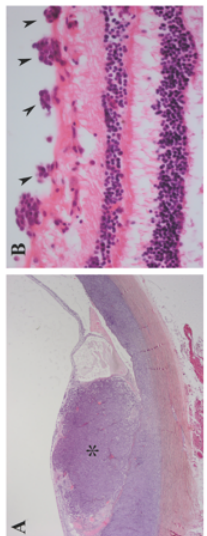
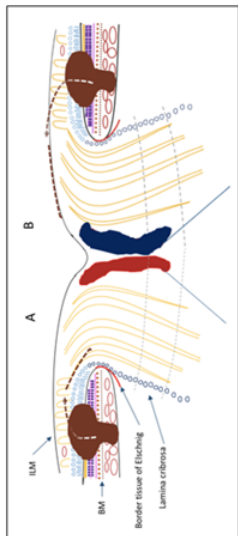
Transzvitreális invázió

- A. Élő melanoma sejtek szóródása az üvegtesti térbe
 B. Malignus sejtek extravazációja a retinális erekből az üvegtestbe vagy melanoma sejtek migrációja üvegtesti vérzéssel



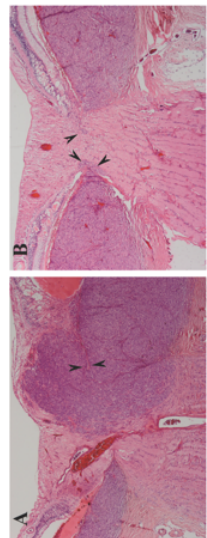
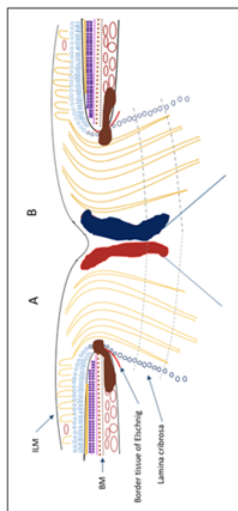
Retinális invázió

- A. Neuroretinális tumor terjedés a Bruch-membrán áttörése során
 B. A malignus sejtek a retina belső felszínén terjednek



Peripapilláris invázió

- A. Tumor terjedés a Bruch-membrán vége és az Elschmig-határhártya között
 B. A tumor extenziója az Elschmig-határhártyán keresztül



30. ábra. A chorioidea melanoma látóideg inváziójának mechanizmusai. Balra a transzvitreális invázió: az ora serrata szomszédságában keletkező perifériás melanoma felszínéről szóródott melanomasejtek látóideg-inváziója **(A)** és **(B)** fotomikroszkópos felvétele (PAS, 5x). Középen az UM retinális inváziójával kapcsolatos látóideg érintettség mechanizmusai: **(A)** A Bruch-membrán áttörése utáni retinainvázió (csillag) (H&E, 5x), **(B)** A belső határhártya mentén terjedő chorioidea melanomasejtek (nyílhegyek) (H&E, 100x). Jobbra a chorioidea melanoma peripapilláris látóidegfő inváziójának mechanizmusai: **(A)** peripapilláris chorioidea melanoma a Bruch-membrán vége (nyílhegyek) és a határhártya között terjed a látóidegfőbe (H&E, 10x). **(B)** Chorioidea melanoma közvetlen inváziója (nyílhegyek) a határhártyán keresztül a látóidegbe (H&E, 10x).

szalaieszter_198_24

A 15. táblázat a peripapilláris és/vagy transzvitreális és/vagy retinális invázióval rendelkező melanomák klinikai-patológiai jellemzőit mutatja. A peripapilláris csoportban a sejttípus 67%-ban (8/12) vegyes, 25%-ban (3/12) epithelioid és 8%-ban (1/12) orsósejtes volt. A transzvitreális/retinális invázióval rendelkező melanomák 89%-ában (8/9) a sejttípus vegyesnek, 11%-ában (1/9) pedig orsósejtesnek mutatkozott. Statisztikailag szignifikáns különbséget tártunk fel a két csoport között az LBD ($P=0,021$), a tumor vastagsága ($P=0,017$), a vortex véna érintettség ($P=0,022$) és a retina invázió ($P=0,007$) tekintetében. Emelkedett intraokuláris nyomást egy esetben (8%) találtunk a peripapilláris csoportban és 3 esetben (33%) a transzvitreális/retinális inváziós csoportban.

15. táblázat. A peripapilláris és transzvitreális és/vagy retinális invázióval rendelkező chorioidea melanomák klinikai-patológiai jellemzői.

	Peripapilláris invázió (n=12)	Transzvitreális és/vagy retinális invázió (n=9)	P*
LBD, átlag±SD (95% KI) mm	10,85±4,99 (7,68-14,02)	18,30±7,52 (12,52-24,08)	0,021
Prominencia, átlag±SD (95% KI) mm	5,91±3,85 (3,46-8,35)	11,20±4,92 (7,42-14,98)	0,017
Mitotikus index, átlag±SD (95% KI) /40 HPF	2,17±1,27 (1,36-2,97)	2,43±1,90 (0,67-4,19)	0,826
BM ruptura %	50 (6/12)	89 (8/9)	0,083
Vortex véna invázió %	0 (0/12)	44 (4/9)	0,022
Retina invázió %	25 (3/12)	89 (8/9)	0,007
Emisszária invázió %	33 (4/12)	33 (3/9)	0,524
Sclerális invázió %	83 (10/12)	100 (9/9)	0,294
Extrasclerális terjedés %	25 (3/12)	33 (3/9)	0,701
Nekrotikus %	8 (1/12)	44 (4/9)	0,315

* Mann-Whitney U teszt (folyamatos változók), Fisher's exakt teszt (binomiális változók).
SD = standard deviáció; KI = konfidencia intervallum; HPF = Nagy nagyítású látótér

A látóideg inváziója 67%-ban (14/21) prelamináris, 10%-ban (2/21) lamináris és 23%-ban (5/21) retrolamináris volt. Az exenterációs mintában a tumor a látóidegen keresztül a sebészi reszekciós szélig terjedt. A 16. táblázat összefoglalja a prelamináris és lamináris/retrolamináris invázióval rendelkező melanomák klinikai-patológiai jellemzőit. A

szalaieszter_198_24

prelamináris csoportban a sejttípus 79%-ban (11/14) vegyes, 14%-ban (2/14) epithelioid és 7%-ban (1/14) orsósejtes volt. A lamináris/retrolamináris invázióval rendelkező melanomák 71%-ában (5/7) a sejttípus vegyes, 14%-ában (1/7) epithelioid és 14%-ában (1/7) orsó típusú volt. A prelamináris melanomák 93%-a (13/14) és a lamináris/retrolamináris melanomák 71%-a (5/7) volt jelen peripapilláris lokalizációban. A látóideg-invázió növekedési mintázat szerinti megoszlása a következő módon alakult: transzvitreális a prelamináris csoportban 7%-ban (1/14), szemben a lamináris/retrolamináris csoport 14%-ával (1/7); retinális invázió 21%-ban (3/14), szemben a 29%-kal (2/7); peripapilláris 64%-ban (9/14), szemben a 43%-kal (3/7); és kombináltan 7%-ban (1/14), szemben a 14%-kal (1/7). A prelamináris és a lamináris/retrolamináris csoportok között statisztikailag szignifikáns különbség volt a vortex véna invázió ($P=0,013$) és a tumor nekrozis ($P=0,021$) tekintetében. A prelamináris csoportban 4 esetben (29%), a lamináris/retrolamináris inváziós csoportban pedig egyetlen betegnél sem észleltünk emelkedett intraokuláris nyomást.

16. táblázat. A prelamináris és lamináris/retrolamináris látóideg invázióval járó chorioidea melanomák klinikai-patológiai jellemzői.

	Prelamináris (n=14)	Lamináris/retrolamináris (n=7)	P*
<i>LBD, átlag±SD (95% KI) mm</i>	12,42±5,41 (9,30-15,55)	17,29±9,30 (8,68-25,89)	0,433
<i>Prominencia, átlag±SD (95% KI) mm</i>	6,76±4,34 (4,26-9,27)	11,0±5,35 (6,05-15,95)	0,061
<i>Mitotikus index, átlag±SD (95% KI) /40 HPF</i>	2,00±1,29 (1,22-2,78)	2,83±1,83 (0,91-4,76)	0,274
<i>BM ruptura %</i>	57 (8/14)	86 (6/7)	0,225
<i>Vortex véna invázió %</i>	0 (0/14)	57 (4/7)	0,013
<i>Retina invázió %</i>	43 (6/14)	71 (5/7)	0,247
<i>Emisszária invázió %</i>	29 (4/14)	43 (3/7)	0,544
<i>Sclerális invázió %</i>	86 (12/14)	100 (7/7)	0,391
<i>Extrasclerális terjedés %</i>	14 (2/14)	57 (4/7)	0,096
<i>Nekrozis %</i>	7 (1/14)	57 (4/7)	0,021

* Mann-Whitney U teszt (folyamatos változók), Fisher's exakt teszt (binomiális változók).
SD = standard deviáció; KI = konfidencia intervallum; HPF = Nagy nagyítású látótér

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 csoportban tíz betegnél korábban brachyterápiát alkalmaztunk, egy beteget pedig korábban transzpupilláris termoterápiával és protonnyalábos sugárkezeléssel kezeltek. A B csoportban 4 beteg esett át brachyterápián, 2 beteg protonnyalábos sugárkezelésben részesült, 1 beteg pedig arteria ophthalmica embolizáción esett át. A B csoportban minden betegnél májmetasztázis, hat betegnél tüdő, három betegnél csont, 3 betegnél helyi, 2 betegnél bőr alatti és egy betegnél nyirokcsomó metasztázis volt detektálható. Két betegnél (5%) már a szemészeti megjelenéskor metasztázist találtak. Az A csoportban minden beteg életben volt, míg a B csoportban öt beteg (25%) élt a vizsgálat idején, 15 beteg (75%) elhunyt. 17 betegnél végeztünk génexpressziós profil vizsgálatot. Az A csoportban két betegnél láttunk GEP 2. osztályú, négy betegnél 1. osztályú és két betegnél 1A és 1B osztályú melanomát. A B csoportban öt betegnek volt 2. osztályú génexpressziós profilja, két betegnek 1B osztályú daganata.

A metasztázis nélküli és metasztatikus uvea melanomás betegek klinikai-patológiai jellemzőit a 17. táblázat foglalja össze. Az A csoportú betegeknél a szövettani sejttípus 95%-ban (19/20) vegyes és 5%-ban (1/20) epitelioid volt, a B csoportban 80%-ban (16/20) vegyes sejttípus, 20%-ban (4/20) epitelioid ($P=0,191$). A B csoportban szignifikánsan magasabb átlagos LBD-t ($P=0,006$) és átlagos tumorvastagságot ($P=0,005$) figyeltünk meg. A statisztikai elemzés nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között a Bruch-membrán áttörés ($P=0,204$), a sclerális invázió ($P=0,127$), az extrascleralis kiterjedés ($P=0,231$) és a vortex véna invázió ($P=1,000$) tekintetében.

szalaieszter_198_24

A BAP1 expresszióját immunhisztokémiai módszerrel elemeztük a metasztázis nélküli (A csoport) és metasztázisos (B csoport) primer uvea melanomás betegek paraffinmetszetein. 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 ($P=0,092$).

17. táblázat. A metasztázis nélküli (A csoport) és metasztázisban szenvedő (B csoport) uvea melanomás betegek klinikai-patológiai jellemzői

	A csoport (n=20)	B csoport (n=20)	P*
Kor [#] (év)	58,5 (15,5)	57,4 (14,3)	0,809
Legnagyobb alap [#] (mm)	14,28 (4,37)	18,14 (3,93)	0,006
Prominencia [#] (mm)	6,41 (2,71)	10,65 (8,02)	0,005
TNM stádium	1	5 (25%)	0,001
	2	2 (10%)	
	3	10 (50%)	
	4	3 (15%)	
Magis BAP1 festődés	Alacsony	5 (25%)	0,025*
	Magas	15 (75%)	
Citoplazma BAP1 festődés	Alacsony	6 (30%)	0,092
	Magas	14 (70%)	
BM ruptura	7 (35%)	11 (55%)	0,204*
Vortex véna invázió	0 (0%)	1 (5%)	1,000
Sclera invázió	13 (65%)	18 (90%)	0,127
Extrasclerális terjedés	0 (0%)	3 (15%)	0,231
GEP osztály	1	8/10 (80%)	0,058
	2	2/10 (20%)	

[#]Átlag (standard deviáció), *Khi-négyzet próba

szalaieszter_198_24

A nukleáris BAP1 immunreaktivitás tekintetében szignifikáns különbség volt a korábbi kezelésem átesett és nem kezelt betegek között ($P=0,006$). Nem állt fenn statisztikailag szignifikáns különbség a nukleáris BAP1 festődésben a májmetasztázisos és a többszörös metasztázisban szenvedő betegek között ($P=0,337$). A BAP1 reaktivitás a magban nem különbözött szignifikánsan az élő és az elhunyt áttétes uvea melanomás betegek között ($P=0,433$). Szignifikánsan alacsonyabb nukleáris BAP1 expressziót találtunk a 2. osztályú génexpressziós profillal rendelkező betegeknél az 1. osztályú tumorról rendelkezőkhöz képest ($P=0,001$).

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 (18. táblázat). Emellett kimutatta, hogy a magasabb nukleáris BAP1 expresszió csökkentette az áttét kialakulásának esélyét. Más klinikai-patológiai paraméterek nem járultak hozzá szignifikánsan az áttétes uvea melanoma kialakulásához ($P>0,05$). A többváltozós logisztikus regressziós modell azt eredményezte, hogy a nukleáris BAP1 festődés volt az áttétes betegség egyetlen szignifikáns független előrejelzője ($P=0,042$) (19. táblázat). A magas nukleáris BAP1 festődéssel rendelkező betegeknél hosszabb áttétmentes túlélést figyeltünk meg, mint az alacsony BAP1 festődéssel rendelkezőknél ($P=0,004$) (31. ábra). 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 (31. ábra).

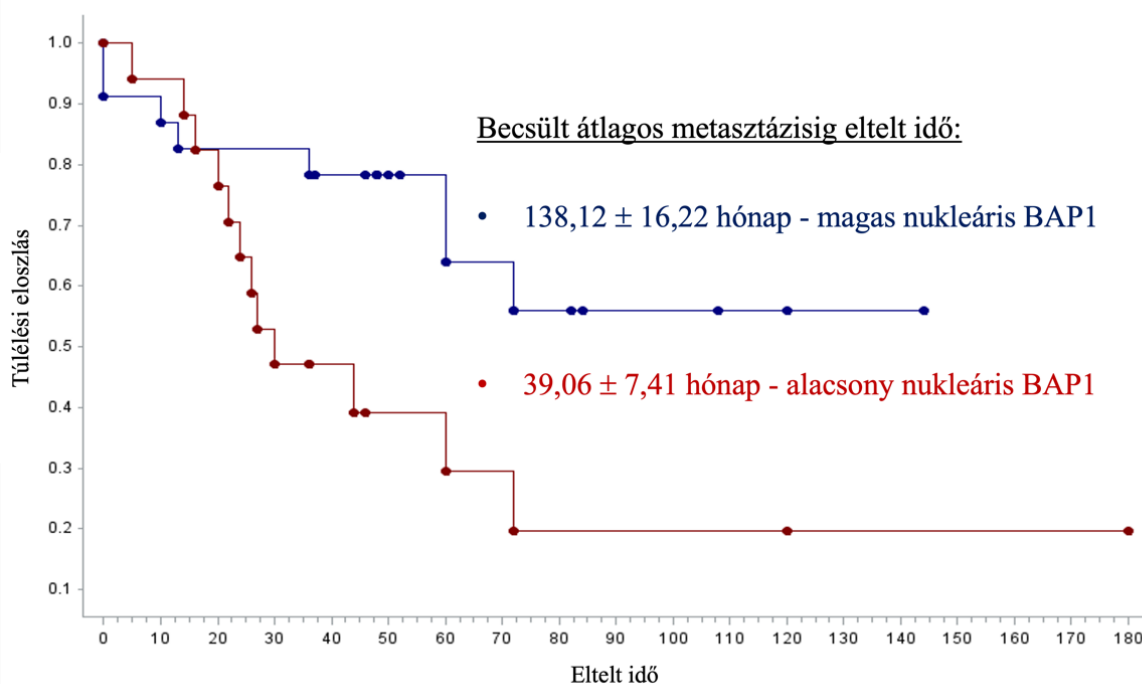
18. táblázat. A metasztázis kockázat prediktorainak logisztikus regressziós analízise.

		Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	P érték
<i>Kor</i>		0,947 (0,618, 1,451)*	0,8032
<i>Legnagyobb alap</i>		1,268 (1,048, 1,534)	0,0146
<i>Prominencia</i>		1,302 (1,063, 1,595)	0,0107
<i>TNM stádium</i>	1	0,053 (0, 0,348)	0,0008
	2	0,639 (0,053, 9,877)	
	3	0,085 (0,008, 0,585)	
	4	Referencia csoport	
<i>Magi BAP1 festődés</i>	<i>Alacsony</i>	Referencia csoport	0,0291
	<i>Magas</i>	0,222 (0,058, 0,858)	
<i>Citoplazma BAP1 festődés</i>	<i>Alacsony</i>	Referencia csoport	0,0649
	<i>Magas</i>	0,123 (0,013, 1,138)	
<i>BM ruptura</i>		2,270 (0,636, 8,106)	0,2069
<i>Sclera invázió</i>		4,485 (0,863, 27,221)	0,0731

*10 évenkénti növekedés

19. 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)	

**31. ábra.** Kaplan-Meier metasztázismentes túlélési görbe az alacsony és magas nukleáris BAP1 festődésű uvea melanómás betegek esetében.

3.3 Uvea melanoma mutációs és metasztatikus rátája

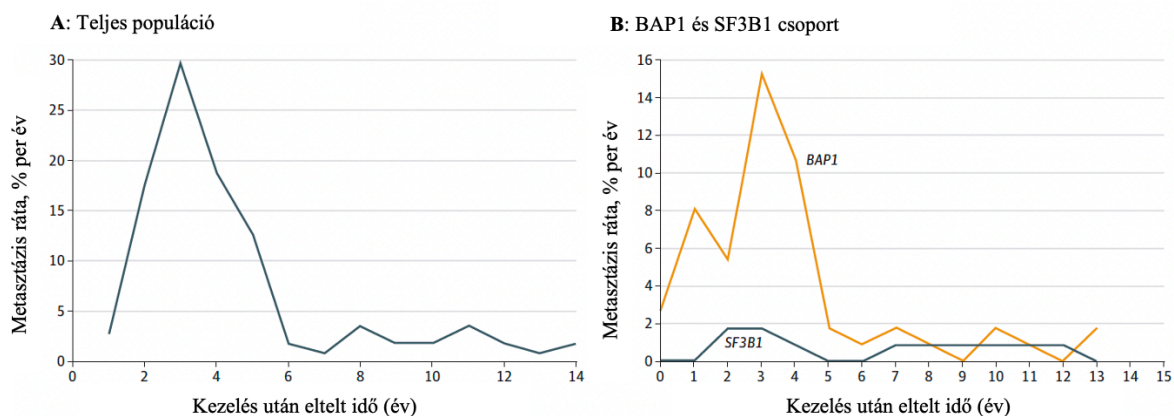
A Shields és munkatársai¹⁶² által közzétett 5 éves metasztázis rátára vonatkozó adatok alapján az algoritmusunkkal $1,09 \times 10^{-8}$ és $7,86 \times 10^{-7}$ közötti mutációs rátákat kalkuláltunk sejtosztódásokonként, amint azt a 23. táblázat mutatja. A kisebb vastagságú tumorok esetében lényegesen magasabb mutációs rátát találtunk (20. táblázat). A COMS Group¹⁶³ 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.

20. táblázat. A különböző méretű (prominencia) uvea melanomák számított mutációs aránya a Shields és munkatársai által közzétett 5 éves áttétképződési arány alapján.¹⁶²

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.¹³⁸ Ebben a vizsgálatban 255 alany vett részt, akik közül 162-en BAP1 mutációval, 43-an SF3B1-mutációval, 21-en EIF1AX-mutációval rendelkeztek és 29-en mutáció nélkül. 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 (32. A ábra). Az al csoport-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-szel rendelkező beteget kizártunk, mivel ők BAP1 mutációt hordoztak. Huszonöt GNAQ-mutációval rendelkező beteg BAP1 mutációt hordozott és 5 GNAQ-mutálódott beteg SF3B1-mutációval is rendelkezett. A GNA11 mutációt hordozó alanyok közül 24-en BAP1 mutációban szenvedtek és közülük 4-en SF3B1-mutációval rendelkeztek. 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 (32. B ábra). Az EIF1AX-mutációkat hordozó tumorban szenvedő betegeknél nem találtunk áttétet.



32. ábra. (A) Az ábra az éves metasztázis rátát 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 mutációt hordozó csoport esetében.

3.4 Uvea melanoma BAP1 mutáció kialakulásának ideje

A negyedik vizsgálatba összesen 177 primer uvea melanoma miatt enukleáción átesett beteget vontunk be. BAP1 szekvenálási eredmények és BAP1 immunhisztokémiai eredmények 76 (43%), illetve 101 (57%) esetben álltak rendelkezésre. A BAP1 immunfestéssel rendelkező daganatok közül negyven szolgált validációs kohorszként. A betegek átlagos életkora az enukleációkor 61 ± 15 év volt. Százhuszonhárom beteg (69%) esetében a betegség American Joint Committee on Cancer (AJCC) IIB vagy IIIa stádiumban 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 mm^3 , $P=0,025$).

Hasonlóképpen, a BAP1 expresszióját elvesztő tumorsejtek átlagos térfogata szignifikánsan nagyobb volt ($2657 \pm 1283 \mu\text{m}^3$), mint azoké, amelyek expressziója megmaradt ($1593 \pm 602 \mu\text{m}^3$, $P=0,027$). Az összes tumorsejt átlagos térfogata a BAP1 expressziótól függetlenül $2105 \pm 936 \mu\text{m}^3$ volt.

A tumorsejtek átlagos száma tumoronként $433\,941\,547 \pm 410\,738\,729$ volt, amit úgy számoltunk ki, hogy az egyes tumorok térfogatát elosztottuk a $2105 \mu\text{m}^3$ átlagos tumorsejt-térfogattal. A BAP1 expresszió-vesztéssel rendelkező tumorsejtek átlagos száma $251\,520\,892 \pm 368\,488\,894$ volt. A daganatsejtek számának és a BAP1 vesztéssel rendelkező daganatsejtek számának eléréséhez szükséges sejtosztódások átlagos száma $27,9 \pm 1,7$ (legkisebb tumor 24,2, legnagyobb tumor 30,7), illetve $25,8 \pm 3,2$ (legkisebb tumor 19,5, legnagyobb tumor 30,4). A 2,1 daganat duplázódásnyi különbség azt jelzi, hogy a mutáció akkor következett be, amikor az elváltozás csak 4 rosszindulatú sejtből állt.

szalaieszter_198_24

Korábbi szerzők primer UM esetében 128 és 511 nap közötti medián kettőződési időkről számoltak be. Ha minden egyes megduplázódás 128 napot vett igénybe, akkor a jelen kohorszban a tumorkok átlagosan 3571 nappal vagy 9,8 évvel a diagnózis felállítása előtt $1 \pm 0,6$ sejtből álltak (8,5 – 10,8 között). Ugyanezt a megduplázódási időt alkalmazva a BAP1 expressziót elvesztett sejtpopulációra, az első BAP1 expressziót elvesztett tumorsejt átlagosan 3302 nappal vagy 9,0 évvel a diagnózis előtt jelent meg (SD: 1,1, 6,8 – 10,7 között).

Ha ehelyett a megduplázódási idő 511 nap volt, az első rosszindulatú sejt $39,1 \pm 2,4$ évvel a diagnózis előtt jelent meg (33,9 - 43,0 között), a BAP1 mutáció pedig 3 évvel később, $36,1 \pm 4,5$ évvel a diagnózis előtt (27,3 - 42,6 között).

A BAP1 fehérje expresszióját elvesztett és megtartott tumorsejtek méréseit egy korábban közzétett, 8033 betegből álló kohorsz átlagára alkalmaztuk. Ebben a kohorszban a tumor átlagos átmérője és vastagsága az UM diagnózisakor 11,1, illetve 5,5 mm volt. A Char és munkatársai által leírt, a tumor- és sejttérfogat kiszámítására szolgáló képletet alkalmazva, egy ilyen mérésekkel rendelkező UM térfogata 348 mm^3 lenne. Egy ilyen térfogatú tumorban körülbelül 165 320 665 tumorsejt lenne, ha $2105 \mu\text{m}^3$ átlagos tumorsejt térfogatot használnánk.

Mint a korábbiakban bemutattuk, a BAP1 mutáns sejtek térfogata a tumor térfogatának függvényében írható le. E függvények szerint egy 348 mm^3 térfogatú tumor esetében a sejtek 35-41%-ában, azaz körülbelül 57 862 233 - 67 781 473 sejtben veszítené el a BAP1 expresszióját. A 165 320 665 tumorsejt eléréséhez 27,3 sejtduplázódásra lenne szükség. A BAP1 expresszió vesztéssel rendelkező sejtek becsült számának eléréséhez 25,8-26,0 sejtduplázásra lenne szükség. Következésképpen a BAP1 mutáció 1,3-1,5 sejtduplázódás után következett be, amikor a rosszindulatú klón mindössze 3 rosszindulatú sejtből állt.

Ha minden egyes megduplázódás 128 napot vett igénybe, akkor egy 348 mm^3 térfogatú tumor 1 sejtből állt 3494 nap, vagyis körülbelül 9,5 évvel a diagnózis felállítása előtt. Ugyanezt a megduplázódási időt használva a BAP1 expressziót elvesztett sejtpopulációra, az első BAP1

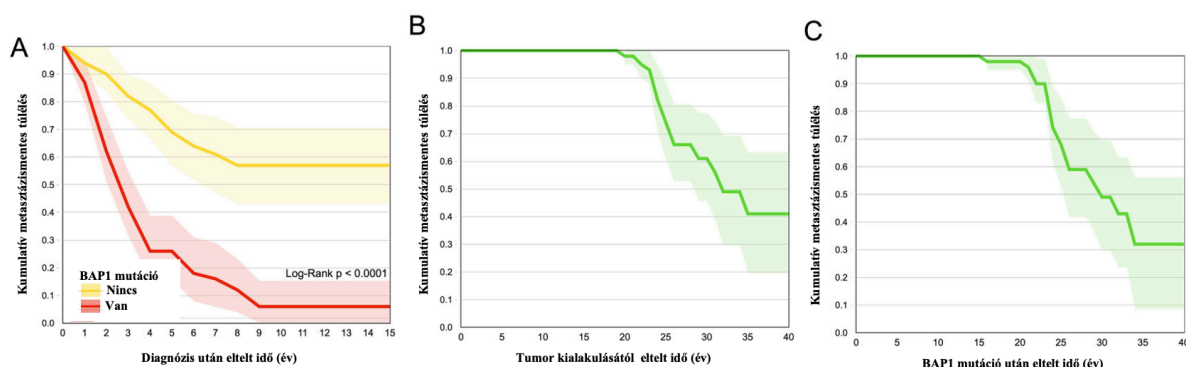
szalaieszter_198_24

expressziót elvesztett tumorsejt 3302-3328 nappal a diagnózis előtt jelent meg, amikor a tumor 166-192 napos, azaz körülbelül 0,5 éves volt. Ha a megduplázódási idő helyett 511 nap volt, akkor a tumor 13 951 nappal vagy körülbelül 38,2 évvel a diagnózis előtt indult el és az első olyan tumorsejt, amelynek elveszett a BAP1 expressziója, 12 286 - 13 184 nappal vagy körülbelül 36,1-36,4 évvel a diagnózis előtt jelent meg. Következésképpen 511 napos megduplázódási idővel az első olyan tumorsejt, amely elvesztette a BAP1 expresszióját, akkor jelent meg, amikor a tumor 767-1665 napos vagy 2,1-4,6 éves volt.

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 progresszióknak 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.

A BAP1 mutációval rendelkező tumorok diagnózisát követően a betegek áttétmentes túlélésének mediánja 2,4 év volt (SE: 0,2, 95% KI: 2,0-2,8), szemben a BAP1 mutáció nélküli tumorok 16,0 évével (SE: 7,6, 95% KI: 1,2-30,9, Log-Rank $P < 0,0001$) (33. ábra). Az immunhisztokémiai festéssel rendelkező tumorok esetében a korábbi publikációkkal^{165,167} összhangban a tumorsejtek 33%-ában megtartott BAP1 expressziót használtuk határértékként. A 177 beteg közül 79 betegnél alakult ki áttét a követés vége előtt. Ebből a 79 metasztázisból 79 (100%) a diagnózistól számított 9 éven belül keletkezett.

Végül a betegek túlélését vizsgáltuk a daganat kialakulása utáni metasztázismentes túlélés és a BAP1 mutáció utáni metasztázismentes túlélés szempontjából. A diagnózis napjának a túlélési elemzés kiindulópontjaként való felhasználásával szemben a tumor beindulásától és a BAP1 mutációtól a diagnózisig eltelt becsült időt vettük alapul. A sejtek megduplázódási idejét 292 napnak feltételeztük, ami a korábbi megfigyelések mediánja.¹⁶⁹



33. ábra. Kumulatív metasztázismentes túlélési arányok. **(A)** BAP1 mutációval vagy alacsony immunhisztokémiai BAP1 expresszióval rendelkező betegek diagnózis utáni túlélése (piros) a BAP1 mutáció nélküli vagy magas BAP1 expresszióval rendelkező betegekéhez képest (sárga). **(B)** Túlélés a tumor kialakulását követően, amely a becslések szerint 22,3 évvel a diagnózis előtt következett be (SD: 1,4). **(C)** Túlélés a BAP1 mutáció után, amely a becslések szerint 20,6 évvel a diagnózis előtt történt (SD: 2,5). A zöld területek 95% KI-ot jelölnek.

A BAP1 mutációt követő metasztázismentes túlélést úgy határoztuk meg, mint azon betegek arányát, akiknél a BAP1 expresszió elvesztésével járó első daganatsejt becsült megjelenését követő meghatározott időpontban nem keletkeztek tünetek és/vagy radiológiai kimutatható áttétek. Két olyan beteget, akiknél a tumorsejtek 100%-ában volt BAP1 expresszió, kizártunk az elemzésből, így 59 beteg maradt. A 292 napos megduplázódási idővel a BAP1 mutációtól a diagnózis felállításáig eltelt átlagos időtartam 20,6 év (SD: 2,5) volt. A Kaplan-Meier-féle metasztázismentes túlélés mediánja a BAP1 mutációt követően 31,0 év volt (SE: 3,9, 95% KI: 23,3-38,7) (33. ábra).

MEGBESZÉLÉS

1. A szemfelszíni egység vizsgálata szisztémás betegségekben

1.1 Sjögren-szindróma

A könny ozmolaritás mérését régóta a száraz szem diagnózis arany standardjának tekintik.^{38,170} Újabban a könny ozmolaritását tartják a száraz szem szindróma legjobb egyedi előrejelzőjének.^{40,171} A száraz szem szindrómában az emelkedett könny ozmolaritásnak feltételezhetően jelentős szerepe van a szemfelszíni gyulladásban és a szaruhártya hámjának károsodásában.^{37,172-174} A könnyfilm hiperozmolaritása ozmotikus stresszt jelent a felszíni hám számára, amely gyulladásos kaszkádot indukál a mitogén aktivált protein kinázokon (MAPK) és a nukleáris faktor kappá B (NFκB) jelátviteli útvonalon keresztül,^{175,176} továbbá a hiperozmotikus állapot a MAPK útvonalon keresztül apoptózist generál a felszíni epitelisejtekben.¹⁷⁷

A könnyfilm hiperozmolaritását kulcsfontosságú patofiziológiai tényezőnek tekintik mind a vizes fázis hiányos száraz szem, mind az evaporatív száraz szem esetében.¹⁷⁸ 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 eltéréseivel lehet magyarázni. Bár Versura és munkatársai szignifikáns különbségeket mutattak ki az egészséges és a száraz szeműek között a TearLab rendszerrel mért könny ozmolarításban, arról is beszámoltak, hogy a kontroll és a száraz szemű alanyok ozmolarítás értékei átfedést mutattak, az ozmolarítás és más diagnosztikai tesztek között alacsony vagy közepes korrelációt mértek

és az ozmolaritás, mint egyetlen teszt, a normál és a száraz szem megkülönböztetésében rosszul teljesített.¹⁷⁹

A jelen vizsgálatunkban a TearLab rendszerrel mért könny ozmolaritás nem tudott különbséget tenni az egészséges és a száraz szeműek között ($P=0,127$). A könny ozmolaritás AUROC értéke 0,583 (95% KI: 0,491 - 0,672) volt. Eredményeinkhez hasonlóan Messmer és munkatársai szintén arról számoltak be, hogy a TearLab rendszer nem tudott különbséget tenni az egészséges ($307,1 \pm 11,3$ mOsm/l) és a száraz szemek között ($308,9 \pm 14,0$ mOsm/l).¹⁸⁰ Azonban a vizsgálatunkban a könny ozmolaritását minden vizsgálati személynek csak az egyik szemében értékelték, ezért a száraz szem szindrómában gyakran előforduló jelentős szemek közötti variabilitást figyelmen kívül hagyhatták.^{180,181} Azt is kimutatták, hogy nincs szignifikáns korreláció a könny ozmolaritás értékei és a standard száraz szem vizsgálati eredmények, mint például a szaruhártya és a kötőhártya festődése, a Schirmer-teszt, a BUT és a Meibom-mirigyek állapota között.¹⁸⁰

Vizsgálatunkban szignifikáns különbséget 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. Goto és munkatársai szignifikánsan magasabb könnypárolgási sebességet ($P=0,0009$) és magasabb fluoreszcein festéstördési pontszámot ($P=0,002$) írtak le Sjögren-szindrómás száraz szemben a nem Sjögren-szindrómás száraz szemhez képest, de a Schirmer I. teszt ($P=0,3$) és a könnyfilm BUT értékei ($P=0,95$) tekintetében nem találtak szignifikáns különbséget a kétféle vizes könnyhiányos száraz szem között.¹⁸²

Összefoglalva, jelentős átfedést figyeltünk meg a kontroll és száraz szemű csoportjaink könny ozmolaritási értékei között. Fontos hangsúlyoznunk, hogy a TearLab rendszer a könnymeniszkusz ozmolaritás viszonyairól ad tájékoztatást, s eredményéből a könnyfilm

valódi ozmolaritására csupán csak következtetni tudunk.² Ezért a készülék mérései önmagukban nem, csak a száraz szem hagyományos diagnosztikus tesztjeivel együtt értékelhetők. Mivel azonban a tünetek kialakulásában és a klinikai jelek progressiójában 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.¹⁸³

1.2 Szisztémás szklerózis

A szem különböző struktúráit gyakran érintik autoimmun vagy kötőszöveti betegségek. Szisztémás szklerózis esetén egyes betegeknél a szemészeti manifesztációk a diagnózis felállításával párhuzamosan, másoknál a diagnózist megelőzően jelentkeznek, míg néhány esetben a tüneteket a szisztémás betegségtől független tünetnek tekintik. A nem diagnosztizált vagy nem megfelelően kezelt szisztémás betegség súlyos szemészeti morbiditáshoz vezethet. Ennek következtében az autoimmun betegségek szemészeti megnyilvánulásaira vonatkozó információk értékesek a reumatológusok, immunológusok és szemészek számára.

Az SSc egy komplex kötőszöveti rendellenesség, amely megváltozott veleszületett és adaptív immunválaszokkal jár, amely túlzott kollagén és extracelluláris mátrix felhalmozódáshoz vezet a különböző szervekben.¹⁸⁴ 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.¹⁸⁵ Az egészséges humán szaruhártya stromában a keratociták nyugalmi állapotban vannak, de aktiválódhatnak és miofibroblasztokká transzdifferentiálódhatnak, amelyek aktívan képesek extracelluláris mátrixot termelni és fibrózist indukálni.¹⁸⁶ A szaruhártya stromájában a fibrózis egy fiziológiás szöveti reparációs folyamat része lehet, amely aztán kóros körülmények között, például autoimmun betegségek esetén túlzott mennyiséget érhet el. 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. Figyelembe kell venni azt a tényt, hogy a mátrix metalloproteinázok által végzett károsodott extracelluláris mátrixlebontás fontos szerepet játszik az SSc patogenezisében.¹⁸⁷ A szintetikus és degradációs folyamatok közötti egyensúlyhiány a degradált anyag felhalmozódásához vezethet a szaruhártya rétegeiben.

A normális szaruhártya stromát többnyire I. típusú kollagén alkotja, kisebb mennyiségben III. és V. típusú kollagénnel, amely szisztémás szklerózisban nagyban érintett.¹⁸⁸ Az SSc-s betegeknek az egészséges alanyokhoz képest kissé alacsonyabb centrális szaruhártya pachymetria értékeket észleltünk. SSc-s betegeinknél a szaruhártya térfogata nem mutatott megnövekedett értékeket. Ez a megállapítás összhangban van korábbi publikációkkal.¹⁸⁹ SSc-s betegeinknél nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a hám- és endotelsejtek 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 idegrost morfológiai paraméter mutatott szignifikáns összefüggést a betegség időtartamával. A legjobban korrigált látóélesség a legtöbb SSc-s esetünkben nem romlott, ami azt jelenti, hogy ezek az ultrastrukturális változások nem befolyásolhatják a látási teljesítményt. A szaruhártya átlátszóságát a stromában lévő kollagénrostok átmérője és a köztük lévő távolság határozza meg.

A szárazszem tesztek és az OSDI-pontszám alapján a vizsgálatunkban szereplő SSc betegek enyhe vagy súlyos szemfelszíni betegségben szenvedtek. A betegek száraz szem tüneteinek alapján történő alcsoport vizsgálata után azonban nem volt szignifikáns különbség az

idegrost morfológiában a csoportok között. Tanulmányunk során számszerűsítettük szisztémás szklerózisban a szubbazális idegek morfológiai elváltozásait. SSc csoportunkban az idegrostok jelentős károsodását észleltük. Ez összhangban van más tanulmányokkal, amelyek a perifériás neuropátia gyakori fennállásáról számoltak be szisztémás szklerózisban szenvedő betegeknél.¹⁹⁰

A látószerv fő funkciójának fenntartásához elengedhetetlen az egészséges szemfelszíni környezet, amely a kötőszöveti betegségek esetén érintett lehet és károsodhat. Legjobb tudomásunk szerint ez az első tanulmány, amely szisztémás szklerózisban szenvedő betegeknél in vivo vizsgálta a szaruhártya morfológiai változásait. Arra a következtetésre jutottunk, hogy ezek a morfológiai változások és a pontszerű anyag felhalmozódása a stromában nem befolyásolhatják a fény terjedését a fénytörő közegekben. Súlyos szemfelszíni betegséget is megfigyeltünk SSc-betegeknél, a szubbazális idegplexus morfológiájának jelentős károsodásával, amely a perifériás neuropátiára utal. Ezen túlmenően az idegrostok változásainak szignifikáns összefüggését figyeltük meg a betegség fennállásával. Eredményeink hangsúlyozzák az IVCN szerepét az SSc-betegnek neuropátiájának rutinszerű szűrésében, amely csökkentheti ezen betegek további morbiditását.

1.3 Epizódikus migrén

A trigeminális ideg alapvető szerepet játszik a szemfelszíni egység funkciójának fenntartásában.² Többek között a szaruhártya és a kötőhártya szenzoros innervációját biztosítja. A nervus trigeminus a szaruhártyát különösen bőségesen idegzi be, amely szabályozza a könnytermelést, fenntartja a szaruhártya átlátszóságát és védi a szemet a sérülésektől, fertőző ágensektől. A szemfelszín funkcionális egységének 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.

Korábban már leírásra került, hogy az IVCN kiváló korrelációt mutat az immunhisztokémiával a dendritikus sejtek sűrűségének meghatározásában a humán szaruhártyában.¹⁹¹ A közelmúltban végzett tanulmányok számos betegség, többek között száraz szem szindróma,¹⁹² fertőzőes keratitisz,¹⁹³ szisztémás autoimmun betegségek^{194,195} és SARS-CoV-2 fertőzés után jelentősen megnövekedett DC sűrűséget írtak le.¹⁹⁶ Egy meta-analízis szerint az átlagos DC sűrűség $26,4 \pm 13,6$ sejt/mm² volt egészséges személyek centrális szaruhártyájában,⁶ amely jól összecseng az eredményeinkkel. A kontrollokhoz képest a DC sűrűség a migrénes betegeknél több mint háromszoros volt. Egy korábbi tanulmány már leírta a dendritikus sejtek csoportosulását a szaruhártya szubbazális idegeinek közvetlen közelében 10 migrénes betegnél.¹¹⁵ Tanulmányunkban ezt az eredményt nagyobb kohorszban tudtuk megerősíteni. Emellett szignifikánsan emelkedett DC területet találtunk, amely e sejtek aktiválódására utal. A fejfájás oldaliságától függetlenül a trigeminális rendszer perifériás gyulladós folyamatának általános aktiválódására utalnak eredményeink. Korábbi tanulmányok demonstrálták, hogy a dendritikus sejtek a T-sejtekre gyakorolt hatásukon keresztül részt vesznek a nocicepció és a fájdalom modulációjában.¹⁹⁷ A trigeminális rostok dendritikus sejtek által közvetített gyulladása szerepet játszhat a nocicepció és a gyulladás pozitív visszacsatolási ciklusában migrénben.

Krónikus migrénes betegeknél csökkent szaruhártya idegrost-sűrűséget és száraz szem jeleit publikálták.¹⁹⁸ Ezzel szemben epizodikus migrénes betegeknél az idegrostok regenerálódásának nyomait fedezték fel.¹⁹⁹ Vizsgálatunkban epizodikus migrénben csökkent idegrost sűrűséget, elágazódás sűrűséget, teljes elágazódás sűrűséget és fraktáldimenziót figyeltünk meg, a különbség azonban nem volt szignifikáns a migrénes és az egészséges

csoport között. A szaruhártya dendritikus sejtjei és a trigeminális ideg szoros kapcsolatban állnak egymással, mivel a dendritikus sejtek állandó kapcsolatban vannak az idegrostokkal. A dendritikus sejtek aktiválhatják az idegrostokat, hogy védőreflexeket váltsanak ki, az idegrostok pedig viszont modulálhatják a dendritikus sejtek aktivitását. A trigeminális ideg rendellenességei jelentős hatással lehetnek a szemfelszín működésére. A trigeminális ideg ophthalmicus ágának károsodása a szaruhártya érzékenységének és könnytermelésének csökkenéséhez vezethet, ami száraz szem szindrómát és más szemfelszíni rendellenességeket eredményezhet. Számos tanulmány a száraz szem betegség és a migrén összefüggését sugallta.^{200,201} A vizsgálatunkban használt átfogó könnyfilm-képző eszköz a Meibom-mirigyek területének szignifikánsan nagyobb mértékű csökkenését mutatta ki a felső szemhéjban az epizodikus migrénes betegeknél. A megváltozott meibográfias pontszám jellemző lehet a Meibom-mirigyek diszfunkciójára,²⁰² azonban a LacryDiag segítségével még nem állapítottak meg diagnosztikus határértéket. A többi könnyfilm-paraméter közül egyik sem mutatott változást migrénben. Egy nemrégiben végzett meta-analízis arra a következtetésre jutott, hogy a migrénes fejfájás összefügg a száraz szem betegség magasabb kockázatával, ami arra utal, hogy a fejfájás a száraz szem betegség független kockázati tényezője lehet.²⁰³

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, epizodikus 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

Az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) 2 az ACE homológja és számos emberi szövetben és sejtben kifejeződik, beleértve a szaruhártya epitelsejtek plazmamembránját és a különböző endotelsejteket.^{204,205} Az ACE2 a dendritikus sejteken exprimálódik, amelyek megfertőződhetnek a SARS-CoV-2-vel.²⁰⁶ A DC-k részvételének több feltételezett útvonala is van a SARS-CoV-2 elleni immunválaszban.²⁰⁷ Vizsgálatunkban enyhe COVID-19 után szignifikánsan magasabb DC sűrűséget találtunk a betegeknél az egészséges önkéntesekhez képest. Szignifikánsan nagyobb dendritikus sejterületet figyeltünk meg SARS-CoV-2 fertőzést követően is. Korábbi tanulmányok arról számoltak be, hogy az elágazó DC-k nagyobb valószínűséggel immunológiailag érettek, a dendrit nélküli kerek sejtek pedig immunológiailag éretlen DC-k lehetnek.²⁰⁸ SARS-CoV-2 fertőzést követően mind érett DC-ket, mind dendrit nélküli éretlen kerek sejteket tudunk azonosítani.

Az IVCN klinikailag és statisztikailag szignifikáns idegrostvesztést és morfológiai változásokat mutatott ki a COVID-19 után. Tepelus és munkatársai száraz szem betegségben szenvedő betegeknél megfigyelték a szaruhártya idegek csökkent sűrűségét és a gyulladással DC-k nagyobb arányát, ami az immunrendszer és a perifériás idegrendszer lehetséges szinergiáját feltételezi a szaruhártyában.²⁰⁹

A SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeknél a szubbazális idegplexusban és a stromális idegekben mikroneuromákat azonosítottunk. A mikroneuromák az idegkárosodás következményei és az ideg regeneráció jelei lehetnek.²¹⁰ Sérülés után a proximális idegcsontból disztálisan előrehaladva sarj nő. Egyes csírázó axonok extraneurálisan növekedhetnek, neuromákat képezve.²¹⁰ Ross és munkatársai a szaruhártya mikroneuromák három típusát írták le: a csont, a laterális és az orsó (fuziform) neuromákat.¹⁶⁰ A perifériás idegek neuromáinak kialakulásában neuroinflammatorikus folyamatok játszanak szerepet, így

a neuroinflammáció elnyomása megakadályozhatja a neuromák kialakulását.²¹¹ Az emberi szaruhártyában szubbazális és stromális mikroneuromákról számoltak be különböző állapotokban, mint például neuropátiás szaruhártya fájdalom,^{160,212} bullous keratopátia²¹³ és keratoplasztika utáni szemekben.²¹⁴ A COVID-19 után kialakuló szaruhártya mikroneuromák olyan gyulladásos és immunmediált folyamatoknak tulajdoníthatók, amelyek idegkárosodást okozhattak.¹⁶⁰ Bár a perifériás idegek neuromái gyakran fájdalmasak,²¹¹ a COVID-19 után egyik betegünk sem számolt be corneális fájdalomról. A SARS-CoV-2 fertőzést követő egyéb idegrost morfológiai elváltozások közé tartozott a fokozott tortuozitás, a megszakítottság és a gyöngyfűzészerű lefűződések. Gyulladásos szemfelszíni betegségekben szenvedő betegeknél a szubbazális idegrostok fokozott kanyargósságát regenerációs folyamatok eredményének tartják.²¹⁵

A szaruhártya bazális epiteliális, elülső stromális keratocita- és endotelsejt-sűrűsége nem mutatott jelentős változásokat SARS-CoV-2 fertőzést követően. A COVID-19 után a hátsó keratocita sűrűség csökkenését figyeltük meg. Az alacsonyabb hátsó keratocita-sűrűség összefüggést mutatott a szaruhártya idegveszteségével diabétesz mellitusban szenvedő felnőtteknél.²¹⁶ SARS-CoV-2 fertőzést követő betegeknél fordított korrelációt találtunk az elülső keratocita sűrűség és az idegrostok területe között. COVID-19 után statisztikailag szignifikáns összefüggést kaptunk a DC sűrűség és az idegrostok teljes ágsűrűsége között.

A vizsgálat legszembetűnőbb eredménye az volt, hogy a centrális szaruhártyában az érett dendritikus sejtek aránya a SARS-CoV-2 fertőzést követően több mint megháromszorozódott az egészséges önkéntesekéhez képest. A COVID-19 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, egyéb szemészeti elváltozások hiányában.

Korábbi publikációk szerint a SARS-CoV-2 fertőzés akut fázisa után sok betegnél tartós neurológiai és vegetatív tünetek jelentkeznek. Ezt a közelmúltban "hosszú COVID-nak" nevezték el.²¹⁷ Az objektív tesztelés és a nem specifikus tünetek átfogó vizsgálata ezeknél a betegeknél jellemzően nem volt eredményes. Nath A. próbált magyarázatot találni a hosszú COVID lehetséges patofiziológiai mechanizmusaira, beleértve a fertőzéstől származó maradványkárosodást, a tartós vírusreplikációt, az állandó immunaktivációt és a társbetegségeket.²¹⁷ Az autoimmun események, a gyulladáshoz vezető válasz vagy a különböző szervek közvetlen károsodása és degeneratív elváltozásai magyarázhatják az akut és a hosszú távú betegség egyes tüneteit.²¹⁷ A belső retina neuronális szövet és a SARS-CoV-2 is károsíthatja, ahogyan arról a központi idegrendszerre vonatkozóan már beszámoltak.²¹⁸ 2002-2003-ban a SARS-CoV-ről kiderült, hogy a központi és a perifériás idegrendszer alkalmi megbetegedéseivel hozható összefüggésbe.²¹⁹

Tanulmányunkban a poszt-COVID csoportban a főidegrostok elsődleges elágazási pontjainak csökkent számát (NBD) és az idegrostok disztális elvesztését igazoló elágazási pontok alacsonyabb összszámát (NTBD) azonosítottuk, normális idegrost szélesség (NFW) mellett. A COVID-19 után a proximálisabb idegeket tükröző idegrostok számának (NFD) jelentős csökkenése volt tapasztalható. Következésképpen a COVID utáni csoportban szignifikánsan csökkent az összes idegrost területe (NFA). A retina neurodegenerációját szintén vizsgáltuk. A neuronvesztés számszerűsítését a GCL-RNFL komplex elemzésével végeztük el. Az RNFL vastagsága nem mutatott szignifikáns különbséget az egészséges és a COVID utáni alanyok között. A vizsgált populációban együttesen fennálló szisztémás betegségek (pl. cukorbetegség és/vagy magas vérnyomás) lehetséges zavaró hatása miatt alacsonyabb csoport elemzést végeztünk a metabolikus rendellenességekben szenvedő betegek kizárásával. Ez nem változtatta meg a végső eredményeinket, tehát a változások nem voltak

visszavezethetők sem a cukorbetegségre, sem a magas vérnyomásra a COVID utáni csoportban.

Az ACE-2 receptor a retinában és a chorioideában, valamint különböző sejttípusokon, például a Müller-sejteken, a ganglionsejteken, a fotoreceptorsejteken és a retinális érrendszeri endothelsejteken exprimálódik.²⁰⁴ A SARS-CoV-2 koronavírus felismeri és kapcsolódik ezen receptorhoz, hogy bejusson a különböző sejtekbe.²⁰⁴ A retina kapilláris hálózatában és a choriocapillárisokban SARS-CoV-2 fertőzést követően bekövetkező mikrovaszkuláris változásokat is vizsgáltuk. Általánosságban nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget az érsűrűségben sem az SCP-ben, sem a DCP-ben az egészséges csoporthoz képest. Csak a temporális SCP VD-je csökkent szignifikánsan a betegeknél a COVID-19 után. Egészséges alanyoknál az SCP VD-je a foveális centrumtól számítva jelentős csökkenést mutatott, a temporális oldalon 51%-os veszteséggel, swept-source OCTA-val mérve.²²⁰ Abrishami és munkatársai 31 beteget vizsgáltak 2 héttel a COVID-19 gyógyulása után és statisztikailag szignifikánsan alacsonyabb foveális és parafoveális érsűrűséget észleltek mind az SCP-ben, mind a DCP-ben egy retrospektív egészséges kohorszhoz képest.²²¹ Feltételezésük szerint ez a társbetegségek (immunológiai betegségek, elhízás, cukorbetegség és kardiovaszkuláris betegségek) nagyobb gyakoriságával magyarázható.²²² Hasonló eredményeket találtak azonban OCTA-val is egy fiatal, poszt-COVID betegek közül álló kohorszban, ahol nem álltak fenn szisztémás betegségek.²²¹ Súlyos COVID-19-ben szenvedő betegeknél mikrovaszkuláris sérülésekről és trombotikus eseményekről számoltak be, amely felhívja a figyelmet a retina mikrovaszkuláris érintettségének OCTA-val történő minősítésének és számszerűsítésének fontosságára.²²¹

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 személyeknél. 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 eszköznek tűnik a COVID-19 utáni perifériás neuropátia monitorozásában.

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 idegrost morfológiát találtunk DM-es betegeknek még retinopátia hiányában is. Korábbi tanulmányok az NFL-t találták a legjobb paraméternek a diabéteszes perifériás neuropátia diagnosztizálására, amelyet az NFD követ.^{223,224} Brines és munkatársai az NFL-t és az NFA-t az enyhe neuropátia érzékenyebb mutatóinak tartották.²²⁵ A fraktáldimenzió egy viszonylag új paraméter a szaruhártya idegmorfológiájának értékelésére az idegrostok térbeli csökkenésének számszerűsítésével. Korábbi szerzők szerint az FD képes különbséget tenni a különböző neuropátia etiológiák között.²²⁶ Korábbi vizsgálatunkban fiatal T1DM betegeknek alacsonyabb NTBD-t figyeltünk meg, amely megerősíti az idegágak korai, disztálisabb elvesztését, ami összhangban van a vékonyabb, disztálisabb ágak vesztésével. A teljes NFA hasonló volt a kontroll személyek és a cukorbetegek között, feltehetően a fő idegrostok korai relatív megőrzése miatt, az idegágak elsődleges csökkenése mellett.⁷⁹ A jelen vizsgálatban az NFW nem különbözött szignifikánsan a cukorbeteg és az egészséges személyek között, amely alátámasztja korábbi magyarázatunkat a disztális idegágak korai, kifejezettebb elvesztéséről.

Vizsgálatunkban az SCP-ben a retinális érsűrűség szignifikánsan csökkent cukorbetegéknél a felső, a temporális és a nazális kvadránsban. A DCP-ben csak a superior érsűrűség csökkent szignifikánsan a diabéteszes betegekénél. Ong és munkatársai a retinopátia nélküli és az enyhe, nem proliferatív DR csoportokban a DR súlyosságának növekedésével alacsonyabb VD-t figyeltek meg az SCP-ben és arra a következtetésre jutottak, hogy az SCP VD változásai érzékenyebbek lehetnek a nem proliferatív DR megkülönböztetésében.²²⁷ Korábbi szerzők azt is kimutatták, hogy a hosszú ideje fennálló T2DM-ben szenvedő, DR nélküli betegekénél az érsűrűség és perfúzió csökkenése és a FAZ határ károsodása korábban jelentkezik a felületes érplexusban, mint a mély érplexusban.²²⁸

Más szerzők OCTA-val korai retinális mikrovaszkuláris elváltozásokat észleltek szemészeti elváltozások hiányában.^{229,230} Ghassemi és munkatársai az SCP parafoveális VD-jét a látáskárosodás prediktív biomarkereként azonosították DM-ben.²³¹ Diabéteszes betegekénél is szignifikáns FAZ-növekedést figyeltünk meg az SCP-ben. A ganglionsejt-komplex vastagsága vizsgálatunkban szignifikánsan csökkent DM-ben. Ennek megfelelően Qiu és munkatársai korrelációt írtak le a ganglionsejttest-veszteség és a retina érrendszeri változásai között a DR súlyosságával.²³² Korábbi tanulmányok kiemelték a neuronális degeneráció és a mikrovaszkuláris változások közötti összefüggést diabétesz mellituszban.^{232,233} A korai DM-ben a GCL és RNFL vastagságának változását neuroretinalis degenerációként azonosították, amely előrevetítheti a mikrovaszkuláris változásokat.²³³ Egy nemrégiben végzett vizsgálatban egyértelmű interakciót figyeltek meg az életkor vagy a diagnózis felállításának ideje és a cukorbetegség időtartama és a mikrovaszkuláris események kockázata között. A mikrovaszkuláris események legnagyobb kockázatát a legfiatalabb életkorban, a leghosszabb betegség-tartam mellett találták.²³⁴

Összefoglalva, a szubbazális idegrostok morfológiája jelentősen megváltozott a diabétesz mellituszban szenvedő betegekénél, de nem mutattak szignifikáns korrelációt a

betegség időtartamával és a HbA1c-vel. Eredményeink a szaruhártya idegrostjainak kifejezettebb és korábbi károsodására utalnak, megelőzve a retina mikrovaszkulaturájának károsodását diabétesz mellituszban szenvedő betegek esetén.

3. Uvea melanoma prognosztikai faktorai, mutációs és metasztatikus rátája

3.1 Uvea melanoma nervus opticus inváziója

Tanulmányunkban 1997 és 2016 között huszonegy primer chorioidea melanomát azonosítottunk szövettanilag igazolt látóideg invázióval. Eredményeink alapján a chorioidea 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.¹³⁶

Az uvea melanomás szemek enukleációját követő szövettani vizsgálatok szerint az esetek 23-59%-ában fordul elő retinális invázió.^{134,136,235,236} 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 retina inváziót mutató enukleációs mintákban a szóródott melanomasejtek malignus preretinális pigmentált membránt képezhetnek.²³⁷ Megfigyeltünk olyan uvea melanoma sejteket is, amelyek az ILM mentén terjedtek és elérték a látóidegfőt. Ezt a növekedési mintázatot a retinális invázió egyik alsóosztályába soroltuk. Feltételezték, hogy a retinális invázió nagyobb valószínűséggel fordul elő, ha a daganat az ora serrata vagy a peripapilláris chorioidea mellett keletkezik, ahol a retina és a chorioidea szorosan tapad egymáshoz.²³⁸ Eredményeink is bizonyítják a Bruch-membrán egyedi szerkezetének szerepét az ora serrata és a peripapilláris átmenetnél, amely hajlamosíthat

a retina invázióra.^{239,240} A retinális invázió prognosztikailag bizonyítottan növeli a tumor kiújulásának kockázatát, de az áttétképződés vagy a halálozás kockázatát nem emeli.²⁴¹

Eredményeink alapján két mechanizmust feltételezünk a melanoma transzvitreális terjedésének magyarázatára: 1) a tumor felszínéről életképes melanomasejtek szóródhatnak az üvegtestbe, miután a tumor áttörte a Bruch-membránt, vagy 2) a rosszindulatú sejtek extravazációja a tumor melletti retinaereken keresztül is bekövetkezhet, illetve a melanomasejtek az üvegtesti vérzéssel együtt az üvegtestbe vándorolhatnak.^{242,243} Ezek a sejtek hajlamosak a lamina cribrosan túl a látóidegfőbe és a látóidegbe behatolni. Spencer 10 olyan uvea melanomáról (8 chorioideális, 2 írisz és sugártest melanoma) számolt be, amelyeknél a tumorsejtek intravitreális terjedése látóideg inváziót mutatott.¹³⁷ Úgy gondolják, hogy ez a fajta terjedés több rosszindulatú melanomasejt-típushoz társul, különösen azokhoz, amelyekben nekrozist vagy vérzést találtak.¹³⁷ Feltételezik, hogy az emelkedett intraokuláris nyomás fokozza a szóródott életképes tumorsejtek tapadását a látóideghez és az inváziót.^{134,137}

Kivelä & Summanen a retinoinvazív uvea melanomát külön entitásként definiálta, amely hasonlóságot mutat a retinába metasztatizáló daganatos megbetegedésekkel.²⁴⁴ Érdekes módon a retina invázió és a transzvitreális terjedés azonos mechanizmusát figyelték meg a retinába és az üvegtestbe metasztatizáló daganatokban.²⁴⁵⁻²⁴⁹ Sőt, egy nemrégiben megjelent közleményben beszámoltak egy esetről, amikor az üvegtestbe és a retinába áttétet képező cutan melanoma a látóidegfő érintettségével jelentkezett.²⁴⁵ A jelenség magyarázata lehet, hogy a melanomasejtek a retina keringésébe juthatnak,²⁴⁶ vagy a pars plana révén közvetlenül az üvegtestbe kerülnek.²⁴⁷ Jaissle és munkatársai egy cutan malignus melanoma esetének izolált üvegtesti metasztázisáról számoltak be és azt a feltevést fogalmazták meg, hogy a tumorsejtek spontán epiretinalis vérzéssel a retrohyaloidális térbe juthatnak.²⁴⁸

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. Az esetek 43%-ában más mechanizmusok is szerepet játszottak, beleértve a transzvitreális terjedést és a retina inváziót. A szomszédos szövetek daganatos infiltrációja az agresszív tumoros viselkedés egyik jellemzője. Szignifikánsan nagyobb bazális átmérő és tumorvastagság mérések, valamint nagyobb arányú vortex véna és retinális invázió volt megfigyelhető a transzvitreális és retinális terjedés típusú csoportban a peripapilláris invázió típusú csoporthoz képest. A chorioidea melanoma transzvitreális és retinális terjedése hasonló terjedési mechanizmusokat mutatott, mint a retina és az üvegtestbe metasztázáló daganatok esetében. Az ilyen növekedési mintákat mutató chorioideális melanomák agresszív fenotípussal rendelkezhetnek, hasonlóan a rossz prognózisú szisztémás tumorok vitreoretinális metasztázisához.^{135,249} Ezzel szemben a legtöbb látóideg érintettségű peripapilláris melanomában inkább a daganat volumen mechanikus terjeszkedése, mint az agresszív infiltratív növekedési mintázat figyelhető meg.¹³⁵

3.2 Uvea melanoma BAP1 immunreaktivitása

Familiáris uvea melanomák kb. 22%-ában (8% és 50% közötti tartományban) mutathatók ki a perifériás vérből csírasejtes BAP1 mutációk, szemben a spontán előforduló uvea melanomás esetekkel, ahol csupán 2-4%-ban.²⁵⁰⁻²⁵² Ugyanakkor a szomatikus BAP1 mutációk magasabb arányáról (kb. 47,4%) számoltak be primer uvea melanomában.^{144,253} A metasztatikus uvea melanoma teljes exom szekvenálása a metasztatikus tumorok 81-84%-ában azonosított inaktivációs szomatikus mutációkat a BAP1-ben.^{144,254} Ewens és munkatársai arról számoltak be, hogy a BAP1 mutációt hordozó uvea melanomák 77%-ában metasztázis fejlődött ki.²⁵⁵ Harbour és munkatársai határozottan arra utaltak, hogy az uvea melanoma metasztatikus kompetenciájának kialakulásához a BAP1 inaktivációra mint döntő eseményre van szükség.¹⁴⁴

A BAP1 mutációval társuló tumor prediszpozíciós szindrómában (TPDS) szenvedő betegeknek a korábbi adatok szerint megnövekedett a különböző malignus daganatok, köztük az uvea melanoma kockázata. Az érintett betegeknek többszörös primer tumoruk lehet, amelyek agresszívebben viselkedhetnek, mint az átlagpopulációban.²⁵⁶ A BAP1 mutációval társuló TPDS autoszomális domináns mintázatban öröklődik, magas penetranciával.²⁵⁶ Cebulla és munkatársai BAP1 csírvonal-mutációt azonosítottak fiatal uvea melanomás betegeknek.²⁵⁷ A rosszindulatú daganatok korai megjelenési életkorát a magas kockázatú örökletes rákos hajlam fontos jellemzőjének tartják még a TPDS esetében is, amelyben az uvea melanoma a legkorábban jelentett malignus megbetegedés.²⁵⁸ Ez az eredmény alátámasztja, hogy a BAP1 szűrését fiatal uvea melanomás betegeknek prognosztikai célból fontolóra kell venni.

Vizsgálatunkban a metasztatikus uvea melanomás betegeknek 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.²⁵⁹ Minden BAP1 mutációval rendelkező mintájukban a BAP1 immunreaktivitás elvesztését találták, függetlenül a mutáció típusától, amelyet Sanger-szekvenálással, géndózis és metilációs elemzéssel mértek.²⁵⁹

Korábbi tanulmányok arról számoltak be, hogy a BAP1 egy kromatinhoz kapcsolódó fehérje és immunhisztokémiával értékelve a sejtmagban található.²⁶⁰ A vad típusú BAP1-ről kimutatták, hogy előnyösen a sejtmagban található, míg a mutáns BAP1 fehérjék csökkent nukleáris lokalizációt mutattak, fokozott citoplazmatikus megjelenéssel.²⁶¹ Bizonyított, hogy a

BAP1 fehérje nukleáris lokalizációja szükséges a tumorszuppresszor aktivitáshoz.²⁶² Ez összhangban van a mi vizsgálatunkkal, amelyben az alacsony nukleáris BAP1 immunreaktivitású uvea melanomás betegeknél a metasztázisok fokozott előfordulását demonstráltuk. 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 regressziós elemzéssel vizsgáltuk, a nukleáris BAP1 festődés volt az egyetlen szignifikáns változó. Saját eredményeinkhez hasonlóan más szerzők is találtak szignifikáns összefüggést a BAP1 immunreaktivitás és a metasztatikus progresszió között uvea melanomában.²⁵⁹

Matatall és munkatársai prezentálták, hogy a BAP1 szükséges a normális melanocita-identitás fenntartásához az uvea melanoma sejtekben és hogy a BAP1 elvesztése sérült sejtidentitáshoz és az össejt-szerű viselkedés erősödéséhez vezet.²⁶³ Decatur és munkatársai feltételezték, hogy a BAP1 mutáció valószínűleg a tumor progressziójának későbbi szakaszában alakul ki és prognosztikai jelentőséggel bír.¹²⁹ Vizsgálati populációjukban a BAP1 mutációkat 2. osztályú génexpressziós profillal ($P < 0,001$), idősebb életkorral ($P = 0,007$) és magas metasztatikus kockázattal találták összefüggőnek. A génexpressziós profilalkotás (GEP) egy olyan prognosztikai teszt, amely az áttétképződés kockázatát jelzi előre uvea melanomában.²⁶⁴ Ez egy RNS-alapú osztályozási teszt, amely 12 diszkrimináló gént és három kontrollgént tartalmaz.²⁶⁴ Az 1A és 1B osztályú GEP-hez tartozó uvea melanomák nagyon alacsony és alacsony áttétképződési kockázattal rendelkeznek, míg a 2. osztályú GEP-hez tartozóknál magasabb az áttétképződés kockázata.

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 a metasztázis kockázat értékelésében.

3.3 Uvea melanoma mutációs és metasztatikus rátája

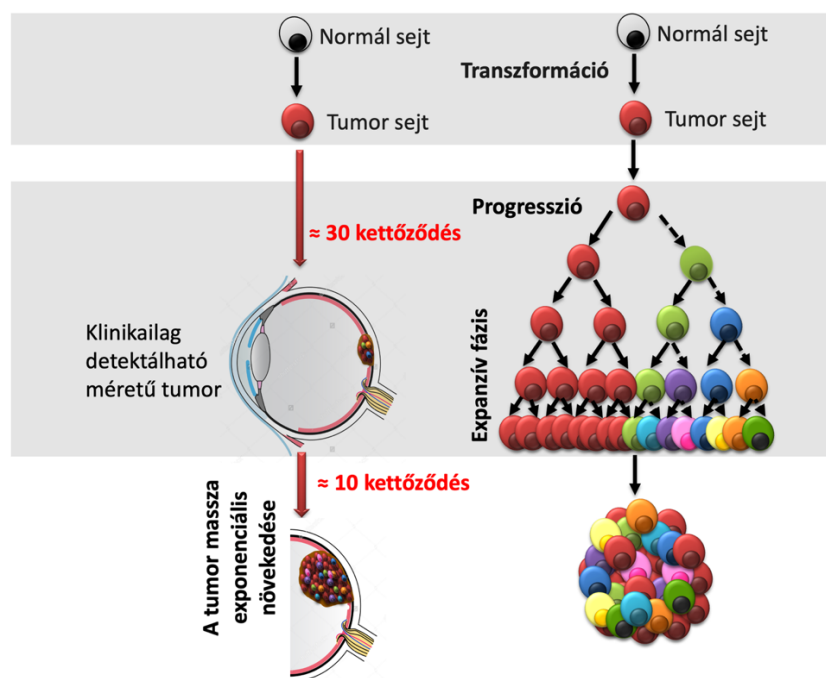
Az uvea melanoma esetében a halálozás csúcspontja körülbelül két évvel a kezelés/diagnózis után következik be. Feltételeztük, hogy ez a hatás legalább részben az UM sztochasztikus tulajdonságainak köszönhető.^{143,265} Más szavakkal, a metasztázis és a metasztázissal összefüggő halálozás uvea melanomában részben véletlen változók által határozható meg. Ebben a tanulmányban a primer UM sztochasztikus tulajdonságait vizsgáltuk, a mutációs rátára és a mutáció típusára összpontosítva.

A közelmúltban végzett vizsgálatok – köztük saját tanulmányunk is - megerősítették, hogy a nagyobb tumorvastagság, a nagyobb bazális átmérő és az előrehaladottabb TNM-stádium szignifikánsan növelte a metasztatikus betegség kialakulásának esélyét uvea

melanomás betegeknél.^{138,163,167,266} Számos matematikai modellt javasoltak a tumortérfogat kiszámítására.²⁶⁷ Nincs validált algoritmus az UM térfogatának becslésére és a matematikai modellezés alkalmazásakor a számított tumortérfogatban nagy eltérést figyeltek meg.²⁶⁸

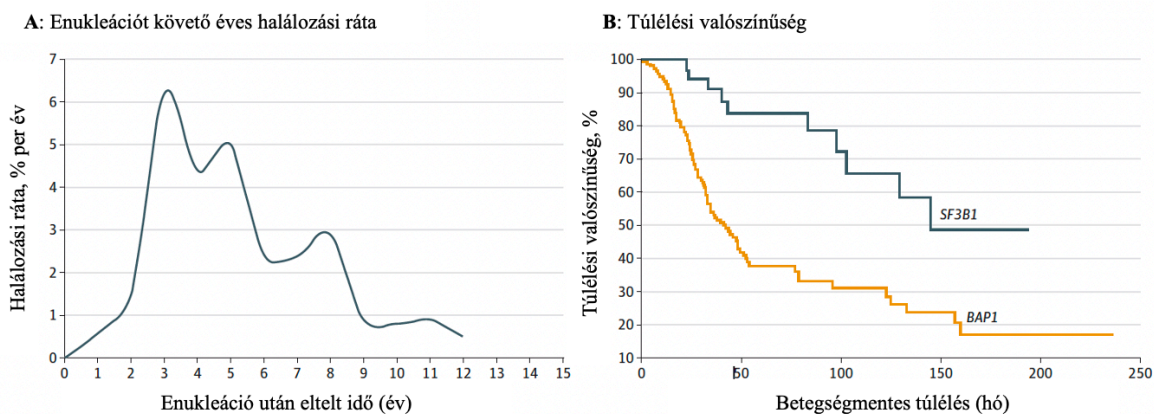
Egy gén spontán mutációs rátáját génenként és osztódásonként 2×10^{-7} -nek feltételezik. A neoplastikus sejtek általában több mutációt tartalmaznak, mint a nem neoplastikus sejtek.²⁶⁹ Tanulmányunkban a számított mutációs ráták $1,09 \times 10^{-8}$ és $7,86 \times 10^{-7}$ között mozogtak sejtosztódásonként az uvea melanomák esetében a kalkulációs módszerünkkel. Williams és munkatársai természetes tumorfejlődést és tömegnövekedést vizsgáltak.²⁷⁰ A legmagasabb mutációs rátákat a tüdő adenokarcinómában (medián $6,79 \times 10^{-7}$), a tüdő laphámrákjában ($5,61 \times 10^{-7}$) és a prosztatarákban ($1,04 \times 10^{-7}$) figyelték meg.²⁷⁰ Tanulmányunkban lényegesen alacsonyabb mutációs rátákat dokumentáltunk uvea melanománál. Gass arról számolt be, hogy a tumor növekedési sebessége korrelált a mitotikus indexszel uvea melanomákban.²⁷¹ A tumor növekedési sebessége a tumor térfogatának megduplázódási idejével jellemezhető. A primer UM esetében a medián megduplázódási idő 154 és 511 nap között változik.^{271,150,169,272} Más neuroektodermális eredetű tumorok esetében is hosszabb megduplázódási időt írtak le (átlagos megduplázódási idő: 144 nap a bőr melanománál²⁷³ és 86,3 nap a tüdő kissejtes karcinómájánál²⁷⁴), mint a rosszindulatú limfómák (29 nap), a mesenchymalis szarkómák (41 nap), a laphámrákok (58 nap) és az adenokarcinómák (83 nap) esetében.²⁷⁵ 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.^{141,149,150,169,271,272} Korábbi szerzők leginkább a mutáció típusának és a mutátor fenotípus szelekciójának fontosságát hangsúlyozták a tumorgenezisben, mint a mutációs rátát.²⁷⁶

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.²⁷⁰ Ugyanakkor kisebb tumorok esetében magasabb mutációs rátát figyeltünk meg. Felmerült, hogy a különböző sejtek mutációs rátáját befolyásolhatja az eltérő sejtnövekedési sebesség.²⁷⁷ Az UM expansziós fázisaiban bekövetkező sejtosztódások száma valószínűleg magasabb a kis tumorok esetében, azaz amikor a daganat elkezdi növekedni (34. ábra), mivel a tumorsejtek megduplázódási ideje a daganat növekedésével meghosszabbodik.²⁷⁸ Mielőtt egy tumor 109 sejtél (= 1 g) kimutathatóvá válik, körülbelül 30 populációs megduplázódáson kell átesnie. A halálos daganat tömegméretéhez (= 1 kg) azonban már csak 10 további megduplázódásra van szükség.²⁷⁸



34. ábra. A sematikus ábra a sejtosztódások túlzott számát szemlélteti az uvea melanoma expanszív fázisában. Új mutáns klónok (szaggatott nyilak) keletkeznek, amely a tumor heterogenitását eredményezi. A tumorsejtek megduplázódása és így a mutációs ráták sokkal magasabbak az expanszív fázisban, amikor a tumor növekedni kezd és klinikailag kimutathatóvá válik.

A Rotterdam Ocular Melanoma Study Group vizsgálta az EIF1AX, SF3B1 és BAP1 mutáció összefüggését a betegségmentes túléléssel és az áttétképződési kockázattal uvea melanomás betegeknél.¹³⁸ Nemrégiben megjelent közleményükben Kaplan-Meier túlélési valószínűségi görbét közöltek e mutációkkal kapcsolatban. Az UM miatt 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 (35. ábra). 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.¹³⁸ 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 COMS grafikon egy kumulatív görbe, de úgy értelmezhető, hogy a Rotterdam Ocular Melanoma Study Grouphoz hasonlóan reprezentatív az általános uvea melanoma populációra. Az eredeti közleményben a betegek 24%-a hordozott SF3B1 mutációt és 21%-a EIF1AX mutációt.¹³⁸ Az immunhisztokémiával meghatározott BAP1 expresszió a betegek 38%-ában elveszett.¹³⁸ Ez összhangban van a korábbi publikációkkal.^{129,144,253} Decatur és munkatársai a BAP1 mutáció prevalenciájáról számoltak be az uvea melanomák 45%-ában, SF3B1 mutációról 24%-ában és EIF1AX mutációról 17%-ában.¹²⁹ Megállapították, hogy a BAP1, SF3B1 és EIF1AX mutációk általában kölcsönösen kizárják egymást.¹²⁹ A rotterdami adatok meta-analízisét követően a BAP1 mutációk esetében 3,5 évnél, az SF3B1 mutáció esetében pedig 2 és 3 év között, valamint 7 évnél késői csúcsot figyeltünk meg az áttétképződésben az elsődleges UM kezelését követően.



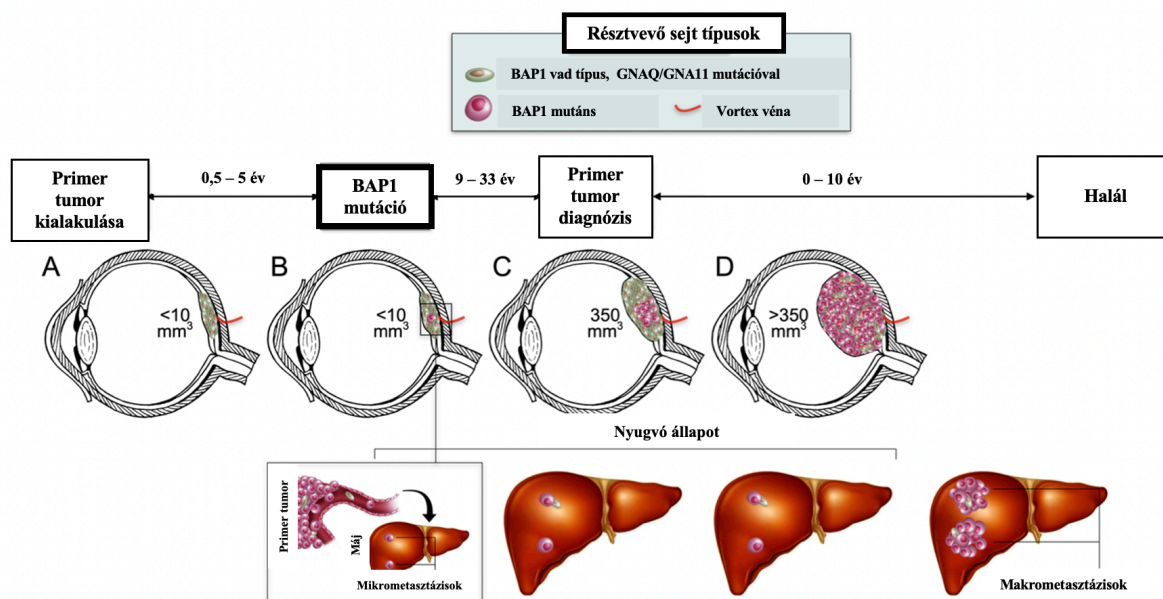
35. ábra. Az enukleációt követő éves halálozási arány közepes méretű uvea melanoma esetén (balra). A különböző mutációs státuszú uvea melanomás betegek túlélési valószínűsége ebben a meta-analízisben (jobbra).

Összefoglalva, eredményeink arra utalnak, hogy az UM esetében az áttétképződési rátával korreláló tumorméret nagyrészt magyarázható az egyes tumorsejtek állandó (intrinsic) mutációs rátájával. Ugyanakkor kisebb tumorok esetében magasabb mutációs rátát figyeltünk 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,²⁷⁹ valamint az elsődleges tumor és az áttétek megduplázódási idejének ismeretében létrehoztunk egy az UM növekedésére és terjedésére vonatkozó modellt (36. ábra).^{149,150,169,272} 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.²⁸⁰ Így matematikai magyarázatot sikerült adnunk a mikrometasztázisok megjelenésére a tumor evolúciójának kezdetén és hangsúlyozzuk a BAP1 mutáció jelentőségét a tumorgenezisben.



36. ábra. Az uvea melanoma növekedésének és szóródásának modellje. **(A)** A tumor kialakulásának kezdetén a G-protein alegységek, köztük a GNA11 vagy GNAQ mutációi halmozódnak fel. **(B)** Az uvea melanomák körülbelül felében a BAP1-ben bekövetkező későbbi mutációk 0,5-5 év után, $< 10 \text{ mm}^3$ -es tumortérfogatnál jelentkeznek. Ekkor a mikrometasztázisok a májba kerülnek. **(C)** Ahogy az elsődleges tumor tovább növekszik, a BAP1 mutáns klón túlélési előnyt élvez a BAP1 vad típusú tumorsejtekkel szemben, fokozatosan felváltva az utóbbiakat. Az átlagos primer tumort 350 mm^3 térfogatnál diagnosztizálják, 9,5-38 évvel a tumor kialakulása után. A mikrometasztázisok évekgig lappanghatnak és kimutathatatlanok maradhatnak. **(D)** Egy későbbi stádiumban a primer tumor - kevés kivételtől eltekintve - kizárólag BAP1 mutánsokból áll. Végül a máj mikrometasztázisok kilépnek a nyugalmi állapotból és radiológiailag kimutatható makrometasztázisokká kezdenek növekedni. A teljes folyamat a primer tumor kialakulásától az áttétes betegség okozta halálozásig egy-öt évtizedet vesz igénybe. A minimális becslés szerint a tumor kialakulása és a diagnózis között 9,5 év telik el, a diagnózistól az áttétes halálozásig pedig 0 év, így a teljes lefolyás 9,5 év. A maximális becsült érték 38 év a tumor kialakulása és a diagnózis között, valamint 15 év a diagnózistól a metasztatikus halálozásig, ami 53 éves teljes lefolyást jelent.

Fontos megjegyezni, hogy modellünk a melanomasejtekre vonatkozik, amelyek definíció szerint rosszindulatúak. Az UM de novo vagy egy naevus malignus transzformációja révén is kialakulhat. Vizsgálatok kimutatták, hogy a chorioidea naevusok az UM-hez hasonlóan G-fehérje kapcsolt receptor (GPCR) mutációkat rejthetnek, mint a GNA11 és GNAQ esetében.^{281,282} Számításos elemzéseink feltételezik, hogy a kiinduló sejt egy rosszindulatú sejt, amely képes elveszíteni a BAP1 gént, függetlenül attól, hogy de novo alakult ki, vagy egy naevusban növekszik. Tudomásunk szerint az irodalomban nem számoltak be BAP1-vesztett chorioidea naevusokról, így modellünk kizárólag a BAP1 mutagenézisre összpontosít az UM evolúciójában.

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 csírvonalbeli mutációra heterozigóta egyének primer fibroblasztjain végzett vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a sejtek fokozott anaerob glikolízissel és csökkent mitokondriális légzéssel rendelkeznek a vad típusú BAP1 egyénekből származó fibroblasztokhoz képest.^{283,284} Ez a megállapítás arra utal, hogy 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. Dokumentálták ugyanis, hogy a BAP1 mutációk lecsökkenthetik az immunellenőrzési pontokért felelős gének expresszióját és fokozhatják a gyulladást a tumor mikro környezetében.²⁸⁵ Egy tanulmány kimutatta, hogy egy májmetasztázis, amely 29 évvel egy 1B GEP osztályú UM kezelése után keletkezett, klonálisan szaporodott plazmasejteket tartalmazott, amely az antitest-közvetített immunitás szerepére utal a lassú tumornövekedésben és az immunelkerülésben.²⁸⁵ Nemrégiben egy másik tanulmány kimutatta az aneuploidia hatását, amelyet gyakran a BAP1 elvesztése esetén monoszómia 3 formájában láthatunk, az

immunszuppresszióban az NF- κ B és más proinflammatorikus jelátviteli útvonalak aktiválásán keresztül.²⁸⁶ Így mind a hipoxiás, mind az őssejt-szerű tulajdonságok evolúciós előnyt biztosítanak a BAP1 mutánsoknak a vad típusú sejtekkel szemben.

Vizsgálatunk azt sugallja, hogy a BAP1 mutáció a tumorigenezis korai szakaszában jelentkezik, valószínűleg akkor, amikor a tumor néhány rosszindulatú sejtből áll. Ez azonban nem jelenti az áttétek azonnali megindulását. Amint egy sejt elveszíti a BAP1 expressziót, extravazálódnia kell a chorioidea ércsatornáiba. A szükséges tumorarchitektúrát ebben a szakaszban kell kialakítani és ez az elsődleges tumorban lévő kis ércsatornákból áll. Kimutatták, hogy a gazdagabb vaszkuláris mintázattal rendelkező tumorok jelentősen nagyobb valószínűséggel adnak áttétet, valamint az érsűrűség pozitívan korrelál az áttétek számával, még a kis UM-ben is.²⁸⁷ Egy másik tanulmány demonstrálta, hogy az alacsony BAP1 expresszió korrelál az olyan területekkel, amelyekben vaszkulogén mimikri található, amely endotelbélés nélküli tubulusok de novo képződéseiből áll, amelyek az UM-et az érett érrendszerhez kapcsolják.²⁸⁸ Így a tumor mikrokörnyezetének jellegzetességei magyarázhatják a BAP1 mutáns klón keletkezése és a mikrometasztatikus terjedés közötti kését.

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.

Tárgyszavak

cornea, COVID-19, dendritikus sejt, diabétesz mellitusz, endothelium, epithelium, immunhisztokémia, in vivo konfokális mikroszkópia, keratocita, könnyfilm, könny ozmolaritás, optikai koherencia tomográfia, optikai koherencia tomográfia angiográfia, melanoma, metasztatikus ráta, metasztázis, migrén, mutációs ráta, SARS-CoV-2, szisztémás szklerózis, uvea

Keywords

cornea, COVID-19, dendritic cell, diabetes mellitus, endothelium, epithelium, immunohistochemistry, in vivo confocal microscopy, keratocyte, tear film, tear osmolarity, optical coherence tomography, optical coherence tomography angiography, melanoma, metastatic rate, metastasis, migraine, mutation rate, SARS-CoV-2, systemic sclerosis, uvea

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

Kutatás sorozatunk eredményeként az irodalomban elsőként publikáltuk OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkóppal szimultán végzett vizsgálatok eredményeit a retinális mikrovaszkuláris károsodás és a corneális neurodegeneráció egyidejű kimutatására.

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

SARS-CoV-2 infekciót követően idegi károsodásra és regenerációra utaló jeleket találtunk a cornea szubbazális idegi plexusában. A fertőzésen átesett személyeknél mikroneuromákat figyeltünk meg a szubbazális idegi plexusban és a stromális idegek szintjében is. Vizsgálatunkban jelentősen emelkedett corneális dendritikus sejt sűrűséget és területet találtunk az enyhe COVID-19 betegségeen átesetteknél egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Az irodalomban először közöltük a szaruhártya sejtes és ultrastrukturális eltéréseit a SARS-CoV-2 infekciót követően, amelyek a betegség neuroinflammatorikus következményeit jelezhetik a corneában egyéb szemészeti eltérés hiányában.

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

szalaieszter_198_24

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.

Summary of new results and their clinical relevance

Prognostic importance of in vivo and ex vivo examinations of the human eye in different disorders affecting the anterior and posterior segment

1. Analysis of ocular surface functional unit in systemic diseases

To the best of our knowledge, we are the first to study and publish the determination of tear osmolarity using the TearLab system in two etiological subtypes of dry eye with water deficiency (non-Sjögren's and Sjögren's syndrome dry eye) and in healthy individuals. The present study revealed a significant overlap between the tear osmolarity values of the control and dry eye groups. We conclude that tear osmolarity should be evaluated in combination with conventional dry eye diagnostic tests.

To our knowledge, we were the first to describe in vivo the ultrastructural features of the corneas of patients with systemic sclerosis. We confirmed and documented the morphological abnormalities observed in the corneas of SSc patients by Cockburn in 1984. We also observed severe ocular surface disease in systemic sclerosis with significant subbasal nerve damage suggestive of peripheral neuropathy. Furthermore, we demonstrated a significant correlation between nerve fibre damage and disease duration.

To date, our study is the largest cohort of patients with episodic migraine in the literature investigating ocular surface functional units. Significant increases in corneal dendritic cell density and dendritic cell area were detected in migraine patients compared to healthy volunteers, suggesting the presence of neuroinflammation in the cornea.

2. Microvascular and neurodegenerative changes of the eye in systemic diseases

Our research resulted in the first publication in the literature of data from simultaneous OCT angiography and in vivo confocal microscopy studies for the simultaneous detection of retinal microvascular damage and corneal neurodegeneration.

In our study, we investigated microvascular and neurodegenerative lesions in unvaccinated patients with mild or asymptomatic SARS-CoV-2 infection who did not require hospitalization. Significant decreases in corneal subbasal nerve fiber parameters and altered morphology were detected in patients after COVID-19 disease. Our combined study resulted in the first publication in the literature of corneal and retinal neurodegeneration and retinal microvascular abnormalities and their association following SARS-CoV-2 infection.

Following SARS-CoV-2 infection, we identified signs of neuronal damage and regeneration in the corneal subbasal nerve plexus. We also detected microneuromas in the subbasal nerve plexus and at the level of stromal nerves in patients with infection. In our study, we found significantly higher corneal dendritic cell density and area in patients with mild COVID-19 disease compared to healthy controls. We report for the first time in the literature the cellular and ultrastructural abnormalities of the cornea following SARS-CoV-2 infection, which may demonstrate neuroinflammatory consequences of the disease in the absence of other ocular abnormalities in the cornea.

In our study in diabetic patients, we have shown that corneal subbasal nerve fiber morphology and retinal capillary density are significantly altered in diabetes mellitus before the appearance of ocular fundus lesions visible with ophthalmoscopy. Our results suggest that in diabetes mellitus, corneal nerve fibres suffer earlier and more pronounced damage compared to retinal microvasculature. To our knowledge, we are the first in the literature to publish simultaneous damage to the corneal subbasal nerve plexus and the optic capillary network in the same patient population with manifest diabetes.

3. Prognostic factors, mutational and metastatic rate of uveal melanoma

We observed 4 mechanisms associated with optic nerve invasion in choroidal melanoma. In 86% of our cases, the tumour was located in a peripapillary localisation and direct peripapillary spread was the most common mode of optic involvement. Transvitreal and retinal spread in choroidal melanomas is also a sign of an aggressive phenotype, similar to vitreoretinal metastasis of systemic tumors, with an unfavourable prognosis.

Examining BAP1 immunoreactivity, metastasis-free survival was significantly longer in primary UM with strong nuclear BAP1 staining. Patients with low nuclear BAP1 reactivity were more likely to metastasize. In addition to low nuclear BAP1 immunoreactivity, greater tumor thickness and base, and more advanced TNM stage also increased the chance of metastasis. However, nuclear BAP1 staining was the only significant independent predictor of metastasis. Our results support the role of BAP1 immunohistochemistry in the prognostic significance of uveal melanoma metastasis risk.

We observed a higher mutation rate in small UM, which may be explained by the higher number of cell divisions occurring during the expansive phase of small melanomas. The spontaneous mutation rate of a gene is assumed to be 2×10^{-7} per gene per division, in our study the mutation rate ranged from 1.09×10^{-8} to 7.86×10^{-7} per cell division. Thus, in uveal melanoma, the tumor size-related metastasis rate can be explained by the constant (intrinsic) mutation rate of individual tumor cells. Our results suggest that the first two peaks in the time to clinically detectable metastasis may correspond to BAP1-mutated tumors, and the later peak to SF3B1-mutated tumors.

BAP1 mutation occurs early in the growth phase of uveal melanoma, earlier than the tumour is detected. At the time of primary tumour diagnosis, primary melanoma and liver micrometastases may persist for up to one or more decades. Current knowledge suggests that in nearly half of uveal melanomas, the BAP1 mutation develops after 0.5-5 years, when the

szalaieszter_198_24

tumour volume is $< 10 \text{ mm}^3$. As the primary tumor grows, the BAP1-mutated clone survives better than the wild-type cells, gradually taking their place. The volume of an average-sized UM is 350 mm^3 at diagnosis, a size it reaches between 9.5 and 38 years after its formation. Micrometastases remain dormant for years and are clinically undetectable. In the later stages, the primary tumor, with few exceptions, consists only of BAP1 mutated cells. Ultimately, the micrometastases lose their dormancy and develop into radiologically detectable metastases. Based on our own observations, the whole process from primary tumor formation to metastatic death takes 1-5 decades.

Irodalomjegyzék

A hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Atchison DA, Smith G. (szerk.) Optics of the Human Eye. Butterworth-Heinemann, Edinburgh, 2002: pp 3-20.
2. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409-416.
3. Nishida T. Cornea. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (szerk.) Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management, 2nd edn. Elsevier Mosby, Philadelphia, 2005: pp 3-26.
4. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res* 2003;22:69-94.
5. Hamrah P, Huq SO, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Corneal immunity is mediated by heterogeneous population of antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol* 2003;74:172-178.
6. Mobeen R, Stapleton F, Chao C, Madigan MC, Briggs N, Golebiowski B. Corneal epithelial dendritic cell density in the healthy human cornea: A meta-analysis of in-vivo confocal microscopy data. *Ocul Surf* 2019;17:753-762.
7. Schimmelpfennig B. Nerve Structures in Human Central Corneal Epithelium. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1982;218:14-20.
8. Schlemm T. Nerven der cornea. *Ammon's Ophthalmol* 1831;1:113-114.
9. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76:521-542.
10. Dawson D, Ubles J, Edelhauser H. Cornea and sclera. In: Levin L (szerk) *Adler's Physiology of the Eye*. 11th ed. Elsevier; 2011.
11. Netter F. *Atlas of Human Anatomy*. Philadelphia: Elsevier; 2006.
12. Hartnett M. *Pediatric Retina*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

13. Stone J, van Driel D, Valter K, Rees S, Provis J. The locations of mitochondria in mammalian photoreceptors: Relation to retinal vasculature. *Brain Res* 2008;1189:58-69.
14. Chan G, Balaratnasingam C, Yu PK, Morgan WH, McAllister IL, Cringle SJ, Yu DY. Quantitative morphometry of perifoveal capillary networks in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5502-5514.
15. Hormel TT, Jia Y, Jian Y, Hwang TS, Bailey ST, Pennesi ME, Wilson DJ, Morrison JC, Huang D. Plexus-specific retinal vascular anatomy and pathologies as seen by projection-resolved optical coherence tomographic angiography. *Prog Retin Eye Res* 2021;80:100878.
16. Nesper PL, Fawzi AA. Human parafoveal capillary vascular anatomy and connectivity revealed by optical coherence tomography angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59:3858-3867.
17. Provis JM. Development of the primate retinal vasculature. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:799-821.
18. Snodderly DM, Weinhaus RS, Choi JC. Neural-vascular relationships in central retina of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*). *J Neurosci* 1992;12:1169-1193.
19. Henkind P. Radial peripapillary capillaries of the retina. I. Anatomy: human and comparative. *Br J Ophthalmol* 1967;51:115-123.
20. Weale R. Why does the human retina possess a fovea? *Nature* 1966;212:255-256.
21. *Ophthalmic Pathology and Intraocular Tumors*. USA. 2014-2015. Section 4. Basic and Clinical Science Course. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014.
22. Patel D V., Zhang J, McGhee CNJ. In vivo confocal microscopy of the inflamed anterior segment: A review of clinical and research applications. *Clin Exp Ophthalmol* 2019;47:334-345.
23. Minsky M. Memoir on investing the confocal scanning microscope. *Scanning* 1988;10:128-138.

24. Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, Shields W, Lemp MA. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J* 1990;16:65-73.
25. Böhnke M, Masters BR. Confocal microscopy of the cornea. *Prog Retin Eye Res* 1999;18:553-628.
26. Jalbert I, Stapleton F, Papas E, Sweeney DF, Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol* 2003;87:225-236.
27. Stachs O, Guthoff RF, Aumann S. In Vivo Confocal Scanning Laser Microscopy. 2019 Aug 14. In: Bille JF (szerk) *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2019. Chapter 12.
28. Masters B, Thaer A. Real-time scanning slit confocal microscopy of the in vivo human cornea. *Appl Opt* 1994;33:695-701.
29. Stave J, Zinser G, Grümmer G, Guthoff R. First results of in vivo visualization of corneal structures with a modified Heidelberg retina tomograph (HRT). *Ophthalmologe* 2002;99:276-280.
30. Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *Ocul Surf* 2017;15:15-47.
31. Schiffman RM. Reliability and Validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol* 2000;118:615-621.
32. Vitali C, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjogren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1994;53:637-647.
33. Berta A. A Sjögren szindróma koppenhágai kritériumai. *Szemészet* 1991;128:76-78.
34. Berta A. A praecornealis könnyfilm, a száraz szem felosztása és korszerű diagnosztikája. *Újabb Eredmények a Szemészetben. A száraz szem. Az Országos Szemészeti Intézet Kiadványai.* 1999. Budapest, 1999/2: pp 5-36.

35. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res* 1985; 4:1-7.
36. Németh J, Erdélyi B, Csákány B, Gáspár P, Soumelidis A, Kahlesz F, Lang Z. High-speed videotopographic measurement of tear film build-up time. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1783-1790.
37. Lemp MA, Baudouin C, Baum J, Dogru M, Foulks GN, Kinoshita S, Laibson P, McCulley J, Murube J, Pflugfelder SC, Rolando M, Toda I. The definition and classification of dry eye disease: Report of the definition and classification subcommittee of the international Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:75-92.
38. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent value for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309-4315.
39. Németh J, Pokorny Gy. A Sjögren-syndroma klasszikus szemészeti tesztjei. *Szemészet* 1985;122:70-75.
40. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, Pepose JS, Kosheleff V, Porreco A, Lemp MA. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:6125-6130.
41. 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.
42. Belin MW, Khachikian SS. An introduction to understanding elevation-based topography: how elevation data are displayed - a review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009;37:14-29.
43. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254:1178-1181.

44. Fujimoto JG, Pitris C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical coherence tomography: An emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia* 2000;2:9-25.
45. Fujimoto JG. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol* 2003;21:1361-1367.
46. Somfai GM. Optikai koherencia tomográfia a macula vizsgálatában. In: Németh J (szerk) *Szemészeti Diagnosztikus Képkötő Eljárások*. Budapest: Semmelweis Kiadó; 2011: pp 111-127.
47. Ibrahim MA, Sepah YJ, Symons RC, Channa R, Hatef E, Khwaja A, Bittencourt M, Heo J, Do DV, Nguyen QD. Spectral- and time-domain optical coherence tomography measurements of macular thickness in normal eyes and in eyes with diabetic macular edema. *Eye* 2012;26:454-462.
48. Spaide RF, Koizumi H, Pozonni MC. Enhanced Depth Imaging Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol* 2008;146:496-500.
49. Szalai E, Berta A, Módis L. Új képkötő módszer az elülső szegmentum vizsgálatában: Fourier-domain OCT. *Szemészet* 2011;148:65-72.
50. Szalai E, Németh G, Hassan Z, Módis L Jr. Noncontact Evaluation of Corneal Grafts: Swept-Source Fourier Domain OCT Versus High-Resolution Scheimpflug Imaging. *Cornea* 2017;36:434-439.
51. Szalai E, Csutak A. Comparative analysis of two optical biometry devices: high wavelength swept source OCT versus partial coherence interferometry. *Int Ophthalmol* 2022;42:627-634.
52. Szalai E, Toth N, Kolkedi Z, Varga C, Csutak A. Comparison of various intraocular lens formulas using a new high-resolution swept-source optical coherence tomographer. *J Cataract Refract Surg* 2020;46:1138-1141.
53. Jia Y, Bailey ST, Wilson DJ, Tan O, Klein ML, Flaxel CJ, Potsaid B, Liu JJ, Lu CD, Kraus MF, Fujimoto JG, Huang D. Quantitative optical coherence tomography angiography of

choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2014;121:1435-1444.

54. Láíns I, Wang JC, Cui Y, Katz R, Vingopoulos F, Staurenghi G, Vavvas DG, Miller JW, Miller JB. Retinal applications of swept source optical coherence tomography (OCT) and optical coherence tomography angiography (OCTA). *Prog Retin Eye Res* 2021;84:100951.

55. de Carlo TE, Romano A, Waheed NK, Duker JS. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *Int J Retin Vitreol* 2015;1:1-15.

56. Kashani AH, Chen CL, Gahm JK, Zheng F, Richter GM, Rosenfeld PJ, Shi Y, Wang RK. Optical coherence tomography angiography: A comprehensive review of current methods and clinical applications. *Prog Retin Eye Res* 2017;60:66-100.

57. Nakao S, Yoshida S, Kaizu Y, Yamaguchi M, Wada I, Ishibashi T, Sonoda KH. Microaneurysm Detection in Diabetic Retinopathy Using OCT Angiography May Depend on Intramicroaneurysmal Turbulence. *Ophthalmol Retin* 2018;2:1171-1173.

58. Parrulli S, Corvi F, Cozzi M, Monteduro D, Zicarelli F, Staurenghi G. Microaneurysms visualisation using five different optical coherence tomography angiography devices compared to fluorescein angiography. *Br J Ophthalmol* 2021;105:526-530.

59. Ishikawa H, Stein DM, Wollstein G, Beaton S, Fujimoto JG, Schuman JS. Macular Segmentation with Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2012-2017.

60. Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res* 2010;90:478-492.

61. Viso E, Gude F, Rodríguez-Ares MT. The association of meibomian gland dysfunction and other common ocular diseases with dry eye: a population-based study in Spain. *Cornea* 2011;30:1-6.

62. Albietz JM, Bruce AS. The conjunctival epithelium in dry eye subtypes: effect of preserved and non-preserved topical treatments. *Curr. Eye Res* 2001;22:8-18.
63. Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105:1485-1488.
64. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006;12:130-147.
65. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33:62-69.
66. International Diabetes Federation. Available online: <https://diabetesatlas.org/>.
67. Roszkowska AM, Licitra C, Tumminello G, Postorino EI, Colonna MR, Aragona P. Corneal nerves in diabetes—The role of the in vivo corneal confocal microscopy of the subbasal nerve plexus in the assessment of peripheral small fiber neuropathy. *Surv Ophthalmol* 2021;66:493-513.
68. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: A high-risk state for diabetes development. *Lancet* 2012;379:2279-2290.
69. Turner R. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-853.
70. Sayin N, Kara N, Pekel G. Ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2015;6:92-108.
71. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G; EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009;373:2027-2033.
72. Vithian K, Hurler S. Microvascular complications: pathophysiology and management. *Clin Med (Northfield Il)* 2010;10:505-509.

73. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: II. Prevalence and Risk of Diabetic Retinopathy When Age at Diagnosis Is Less Than 30 Years. *Arch Ophthalmol* 1984;102:520-526.
74. Varma R, Torres M, Peña F, Klein R, Azen SP; Los Angeles Latino Eye Study Group. Prevalence of diabetic retinopathy in adult Latinos: the Los Angeles Latino eye study. *Ophthalmology* 2004;111:1298-1306.
75. Xie X, Atkins E, Lv J, Bennett A, Neal B, Ninomiya T, Woodward M, MacMahon S, Turnbull F, Hillis GS, Chalmers J, Mant J, Salam A, Rahimi K, Perkovic V, Rodgers A. Effects of intensive blood pressure lowering on cardiovascular and renal outcomes: Updated systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2016;387:435-443.
76. Abcouwer SF, Gardner TW. Diabetic retinopathy: loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci* 2014;1311:174-190.
77. Dyck PJ, Davies JL, Wilson DM, Service FJ, Melton LJ 3rd, O'Brien PC. Risk factors for severity of diabetic polyneuropathy: intensive longitudinal assessment of the Rochester Diabetic Neuropathy Study cohort. *Diabetes Care* 1999;22:1479-1486.
78. Bikbova G, Oshitari T, Baba T, Bikbov M, Yamamoto S. Diabetic corneal neuropathy: Clinical perspectives. *Clin Ophthalmol* 2018;12:981-987.
79. Szalai E, Deák E, Módis L Jr., Nemeth 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;57:853-858.
80. Deák E, Szalai E, Tóth N, Malik RA, Berta A, Csutak A. Longitudinal changes in corneal cell and nerve fibre morphology 2 in young patients with type 1 diabetes with and without diabetic 3 retinopathy: a 2-year follow-up study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60:830-837.

81. Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 pandemic: A comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. *J Clin Med* 2020;9:1-29.
82. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 2020;5:536-544.
83. World Health Organization. WHO Director-General's Opening Remarks at the Media Briefing on COVID-19—11 March 2020. Elérhető online: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
84. Shaw B, Daskareh M, Gholamrezanezhad A. The lingering manifestations of COVID-19 during and after convalescence: update on long-term pulmonary consequences of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Radiol Med* 2021;126:40-46.
85. Carfi A, Bernabei R, Landi F; Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA* 2020;324:603-605.
86. Liguori C, Pierantozzi M, Spanetta M, Sarmati L, Cesta N, Iannetta M, Ora J, Mina GG, Puxeddu E, Balbi O, Pezzuto G, Magrini A, Rogliani P, Andreoni M, Mercuri NB. Subjective neurological symptoms frequently occur in patients with SARS-CoV2 infection. *Brain Behav Immun* 2020;88:11-16.
87. Dinkin M, Sathi S. Efferent neuro-ophthalmic complications of coronavirus disease 2019. *Curr Opin Ophthalmol* 2022;33:471-484.
88. Azevedo RB, Botelho BG, Hollanda JVG, Ferreira LVL, Junqueira de Andrade LZ, Oei SSML, Mello TS, Muxfeldt ES. Covid-19 and the cardiovascular system: a comprehensive review. *J Hum Hypertens* 2021;35:4-11.

89. Pons S, Fodil S, Azoulay E, Zafrani L. The vascular endothelium: The cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Crit Care* 2020;24:4-11.
90. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19.’ *J Infect* 2020;80:607-613.
91. Bertoli F, Veritti D, Danese C, Samassa F, Sarao V, Rassu N, Gambato T, Lanzetta P. Ocular Findings in COVID-19 Patients: A Review of Direct Manifestations and Indirect Effects on the Eye. *J Ophthalmic Vis Res* 2020;2020:4827304.
92. Amesty MA, Alió del Barrio JL, Alió JL. COVID-19 Disease and Ophthalmology: An Update. *Ophthalmol Ther* 2020;9:415-426.
93. Dong J, Chen R, Zhao H, Zhu Y. COVID-19 and ocular complications: A review of ocular manifestations, diagnostic tools, and prevention strategies. *Adv Ophthalmol Pract Res* 2023;3:33-38.
94. Güemes-Villahoz N, Burgos-Blasco B, Vidal-Villegas B, Garcia-Feijoo J, Arriola-Villalobos P, Martínez-de-la-Casa JM, Diaz-Valle D, Konstas AG. Novel Insights into the Transmission of SARS-CoV-2 Through the Ocular Surface and its Detection in Tears and Conjunctival Secretions: A Review. *Adv Ther* 2020;37:4086-4095.
95. Meduri A, Oliverio GW, Mancuso G, Giuffrida A, Guarneri C, Venanzi Rullo E, Nunnari G, Aragona P. Ocular surface manifestation of COVID-19 and tear film analysis. *Sci Rep* 2020;10:20178.
96. Hudson M, Thombs BD, Steele R, Panopalis P, Newton E, Baron M; Canadian Scleroderma Research Group. Health-related quality of life in systemic sclerosis: a systematic review. *Arthritis Rheum* 2009;61:1112–1120.
97. Pattanaik D, Brown M, Postlethwaite BC, Postlethwaite AE. Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Front Immunol* 2015;6:272.

98. Kreps EO, Carton C, Cutolo M, Cutolo CA, Vanhaecke A, Leroy BP, Smith V. Ocular involvement in systemic sclerosis: A systematic literature review, it's not all scleroderma that meets the eye. *Semin Arthritis Rheum* 2019;49:119-125.
99. Horan EC. Ophthalmic manifestations of progressive systemic sclerosis. *Br J Ophthalmol* 1969;53:388-392.
100. West RH, Barnett AJ. Ocular involvement in scleroderma. *Br J Ophthalmol* 1979;63:845-847.
101. Waszczykowska A, Goś R, Waszczykowska E, Dziańkowska-Bartkowiak B, Jurowski P. Prevalence of ocular manifestations in systemic sclerosis patients. *Arch Med Sci* 2013;9:1107-1113.
102. Nagy A, Rentka A, Nemeth G, Ziad H, Szücs G, Szekaneč Z, Gesztelyi R, Zsuga J, Aszalos Z, Szodoray P, Kemeny-Beke A. Corneal Manifestations of Systemic Sclerosis. *Ocul Immunol Inflamm* 2019;27:968-977.
103. McCluskey P, Powell RJ. The eye in systemic inflammatory diseases. *Lancet* 2004;364:2125–2133.
104. Gomes BA, Santhiago MR, Jorge PA, Kara-José N, Moraes HV Jr, Kara-Junior N. Corneal involvement in systemic inflammatory diseases. *Eye Contact Lens* 2015;41:141-144.
105. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia* 2018;38:1-211.
106. Tfelt-Hansen PC. History of migraine with aura and cortical spreading depression from 1941 and onwards. *Cephalalgia* 2010;30:780-792.
107. Eigenbrodt AK, Ashina H, Khan S, Diener HC, Mitsikostas DD, Sinclair AJ, Pozo-Rosich P, Martelletti P, Ducros A, Lantéri-Minet M, Braschinsky M, Del Rio MS, Daniel O, Özge A, Mammadbayli A, Arons M, Skorobogatikh K, Romanenko V, Terwindt GM, Paemeleire K,

Sacco S, Reuter U, Lampl C, Schytz HW, Katsarava Z, Steiner TJ, Ashina M. Diagnosis and management of migraine in ten steps. *Nat Rev Neurol* 2021;17:501-514.

108. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2019;18:459-480.

109. GBD 2016 Headache Collaborators. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2018;17:954-976.

110. Olesen J, Burstein R, Ashina M, Tfelt-Hansen P. Origin of pain in migraine: evidence for peripheral sensitisation. *Lancet Neurol* 2009;8:679-690.

111. Levy D, Strassman AM. Mechanical response properties of A and C primary afferent neurons innervating the rat intracranial dura. *J Neurophysiol* 2002;88:3021-3031

112. Ashina M, Hansen JM, Do TP, Melo-Carrillo A, Burstein R, Moskowitz MA. Migraine and the trigeminovascular system-40 years and counting. *Lancet Neurol* 2019;18:795-804.

113. Nosedá R, Burstein R. Migraine pathophysiology: anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *Pain* 2013;154 Suppl 1:S44-53.

114. Messina R, Gollion C, Christensen RH, Amin FM. Functional MRI in migraine. *Curr Opin Neurol* 2022;35:328-335.

115. Shen F, Dong X, Zhou X, Yan L, Wan Q. Corneal subbasal nerve plexus changes in patients with episodic migraine: an in vivo confocal microscopy study. *J Pain Res* 2019;12:1489-1495.

116. Bakalian S, Marshall JC, Logan P, Faingold D, Maloney S, Di Cesare S, Martins C, Fernandes BF, Burnier MN Jr. Molecular pathways mediating liver metastasis in patients with uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:951-956.

117. Dogrusöz M, Bagger M, van Duinen SG, Kroes WG, Ruivenkamp CA, Böhringer S, Andersen KK, Luyten GP, Kiilgaard JF, Jager MJ. The Prognostic Value of AJCC Staging in Uveal Melanoma Is Enhanced by Adding Chromosome 3 and 8q Status. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:833-842.
118. Damato B, Dopierala JA, Coupland SE. Genotypic profiling of 452 choroidal melanomas with multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Cancer Res* 2010;16:6083-6092.
119. Robertson AG, Shih J, Yau C, Gibb EA, Oba J, Mungall KL, Hess JM, Uzunangelov V, Walter V, Danilova L, Lichtenberg TM, Kucherlapati M, Kimes PK, Tang M, Penson A, Babur O, Akbani R, Bristow CA, Hoadley KA, Iype L, Chang MT; TCGA Research Network; Cherniack AD, Benz C, Mills GB, Verhaak RGW, Griewank KG, Felau I, Zenklusen JC, Gershenwald JE, Schoenfield L, Lazar AJ, Abdel-Rahman MH, Roman-Roman S, Stern MH, Cebulla CM, Williams MD, Jager MJ, Coupland SE, Esmaeli B, Kandoth C, Woodman SE. Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma. *Cancer Cell* 2017;32:204-220.e15.
120. Bronkhorst IH, Vu TH, Jordanova ES, Luyten GP, Burg SH, Jager MJ. Different subsets of tumor-infiltrating lymphocytes correlate with macrophage influx and monosomy 3 in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5370-5378.
121. Bronkhorst IH, Ly LV, Jordanova ES, Vrolijk J, Versluis M, Luyten GP, Jager MJ. Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:643-650.
122. Bakalian S, Marshall JC, Logan P, Faingold D, Maloney S, Di Cesare S, Martins C, Fernandes BF, Burnier MN Jr. Molecular pathways mediating liver metastasis in patients with uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:951-956.
123. Kujala E, Makitie T, Kivela T. Very long-term prognosis of patients with malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4651-4659.

124. Onken MD, Worley LA, Long MD, Duan S, Council ML, Bowcock AM, Harbour JW. Oncogenic mutations in GNAQ occur early in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5230-5234.
125. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, Simpson EM, Barsh GS, Bastian BC. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature* 2009;457:599-602.
126. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:2191-2199.
127. Harbour JW, Roberson ED, Anbunathan H, Onken MD, Worley LA, Bowcock AM. Recurrent mutations at codon 625 of the splicing factor SF3B1 in uveal melanoma. *Nat Genet* 2013;45:133-135.
128. Martin M, Maßhöfer L, Temming P, Rahmann S, Metz C, Bornfeld N, van de Nes J, Klein-Hitpass L, Hinnebusch AG, Horsthemke B, Lohmann DR, Zeschnigk M. Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3. *Nat Genet* 2013;45:933-936.
129. Decatur CL, Ong E, Garg N, Anbunathan H, Bowcock AM, Field MG, Harbour JW. Driver mutations in uveal melanoma: associations with gene expression profile and patient outcomes. *JAMA Ophthalmol* 2016;134:728-733.
130. Vader MJC, Madigan MC, Versluis M, Suleiman HM, Gezgin G, Gruis NA, Out-Luiting JJ, Bergman W, Verdijk RM, Jager MJ, van der Velden PA. GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *Br J Cancer* 2017;117:884-887.
131. Dunavoelgyi R, Milman T, Shields CL, Schmidt-Erfurth U, Pulido JS. Minimal residual disease-a novel concept in uveal melanoma. *Eye (Lond)* 2021;35:702-704.

132. Singh AD, Shields CL, Shields JA. Prognostic factors in uveal melanoma. *Melanoma Res* 2001;11:255-263.
133. Wilder HC, Paul EV. Malignant melanoma of the choroid and ciliary body: a study of 2535 cases. *Milit Surg* 1951;109:370-378.
134. Shamma HF, Blodi FC. Peripapillary choroidal melanomas. Extension along the optic nerve and its sheaths. *Arch Ophthalmol* 1978;96:440-445.
135. Lindegaard J, Isager P, Prause JU, Heegaard S. Optic nerve invasion of uveal melanoma: clinical characteristics and metastatic pattern. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3268-3275.
136. [No authors listed] Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study. COMS report no. 6. *Am J Ophthalmol* 1998;125:745-766.
137. Spencer WH. Optic nerve extension of intraocular neoplasms. *Am J Ophthalmol* 1975;80:465-471.
138. Yavuziyigitoglu S, Koopmans AE, Verdijk RM, et al; Rotterdam Ocular Melanoma Study Group. Uveal melanomas with SF3B1 mutations: a distinct subclass associated with late-onset metastases. *Ophthalmology* 2016;123:1118-1128.
139. Zimmerman LE, McLean IW, Foster WD. Does enucleation of the eye containing a malignant melanoma prevent or accelerate the dissemination of tumour cells. *Br J Ophthalmol* 1978;62:420-425.
140. Diener-West M, Earle JD, Fine SL, Hawkins BS, Moy CS, Reynolds SM, Schachat AP, Straatsma BR; Collaborative Ocular Melanoma Study Group. The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma, III: initial mortality findings. COMS Report No. 18. *Arch Ophthalmol* 2001;119:969-982.
141. Singh AD, Rennie IG, Kivela T, Seregard S, Grossniklaus H. The Zimmerman-McLean-Foster hypothesis: 25 years later. *Br J Ophthalmol* 2004;88:962-967.

142. Eskelin S, Kivelä T. Author's reply. *Ophthalmology* 2001;108:830-831.
143. Grossniklaus HE. Progression of ocular melanoma metastasis to the liver: the 2012 Zimmerman lecture. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:462-469.
144. Harbour JW, Onken MD, Roberson ED, Duan S, Cao L, Worley LA, Council ML, Matatall KA, Helms C, Bowcock AM. Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science* 2010;330:1410–1413.
145. Masoomian B, Shields JA, Shields CL. Overview of BAP1 cancer predisposition syndrome and the relationship to uveal melanoma. *J. Curr. Ophthalmol* 2018;30:102–109.
146. Herrspiegel C, Kvanta A, Lardner E, Ramsköld Cabaca L, Wells J, Bartuma K, Seregard S, Stålhammar G. Nuclear expression of BAP-1 in transvitreal incisional biopsies and subsequent enucleation of eyes with posterior choroidal melanoma. *Br J Ophthalmol* 2021;105:582-586.
147. Jouhi S, Jager MJ, de Geus SJR, Desjardins L, Eide NA, Grange JD, Kiilgaard JF, Seregard S, Midena E, Parrozzani R, Caujolle JP, Rospond-Kubiak I, Kivelä TT. The Small Fatal Choroidal Melanoma Study. A survey by the European Ophthalmic Oncology Group. *Am. J. Ophthalmol* 2019;202:100–108.
148. Malclès A, Kivelä T, Svetlosakova Z, Jean-Louis B, Nguyen AM, Sallit R, Négrier S, Pommier P, Rivoire M, Chauvel P, Mammar H, Devouassoux-Shisheboran M, Kodjikian L, Denis P, Grange JD. Small metastasizing choroidal melanomas. *Acta Ophthalmol* 2015;93:e160–166.
149. Eskelin S, Pyrhönen S, Summanen P, Hahka-Kemppinen M, Kivelä T. Tumor doubling times in metastatic malignant melanoma of the uvea: tumor progression before and after treatment. *Ophthalmology* 2000;107:1443–1449.
150. Singh AD. Uveal melanoma: implications of tumor doubling time. *Ophthalmology* 2001;108:829–830.

151. Höh H, Schirra F, Kienecker C, Ruprecht KW. [Lid-parallel conjunctival folds are a sure diagnostic sign of dry eye] *Ophthalmologe* 1995;92:802-8.
152. Hachulla E, Launay D. Diagnosis and classification of systemic sclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011;40:78–83.
153. Walt, J. Ocular Surface Disease Index (OSDI) Administration and Scoring Manual. Irvine, CA Allergan, Inc 2004.
154. Dabbah MA, Graham J, Petropoulos IN, Tavakoli M, Malik RA. Automatic analysis of diabetic peripheral neuropathy using multi-scale quantitative morphology of nerve fibres in corneal confocal microscopy imaging. *Med Image Anal* 2011;15:738-747.
155. Dabbah MA, Graham J, Petropoulos I, Tavakoli M, Malik RA. Dual-model automatic detection of nerve-fibres in corneal confocal microscopy images. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 2010;13(Pt 1):300-307.
156. Chen X, Graham J, Dabbah MA, Petropoulos IN, Tavakoli M, Malik RA. An Automatic Tool for Quantification of Nerve Fibers in Corneal Confocal Microscopy Images. *IEEE Trans Biomed Eng* 2017;64:786-794.
157. Petropoulos IN, Alam U, Fadavi H, Marshall A, Asghar O, Dabbah MA, Chen X, Graham J, Ponirakis G, Boulton AJ, Tavakoli M, Malik RA. Rapid automated diagnosis of diabetic peripheral neuropathy with in vivo corneal confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:2071-2078.
158. Petropoulos IN, Manzoor T, Morgan P, Fadavi H, Asghar O, Alam U, Ponirakis G, Dabbah MA, Chen X, Graham J, Tavakoli M, Malik RA. Repeatability of in vivo corneal confocal microscopy to quantify corneal nerve morphology. *Cornea* 2013;32:e83-89.
159. Kheirkhah A, Rahimi Darabad R, Cruzat A, Hajrasouliha AR, Witkin D, Wong N, Dana R, Hamrah P. Corneal Epithelial Immune Dendritic Cell Alterations in Subtypes of Dry Eye

Disease: A Pilot In Vivo Confocal Microscopic Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:7179–7185.

160. Ross AR, Al-Aqaba MA, Almaazmi A, Messina M, Nubile M, Mastropasqua L, Dua HS, Said DG. Clinical and in vivo confocal microscopic features of neuropathic corneal pain. *Br J Ophthalmol* 2019;104:768–775.

161. Wilkinson CP, Ferris FL 3rd, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, Dills D, Kampik A, Pararajasegaram R, Verdaguer JT; Global Diabetic Retinopathy Project Group. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003;110:1677-1682.

162. Shields CL, Furuta M, Thangappan A, Nagori S, Mashayekhi A, Lally DR, Kelly CC, Rudich DS, Nagori AV, Wakade OA, Mehta S, Forte L, Long A, Dellacava EF, Kaplan B, Shields JA. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. *Arch Ophthalmol* 2009;127:989-998.

163. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliaro DJ, Caldwell R, Cumming K, Earle JD, Hawkins BS, Hayman JA, Jaiyesimi I, Jampol LM, Kirkwood JM, Koh WJ, Robertson DM, Shaw JM, Straatsma BR, Thoma J; Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Development of metastatic disease after enrollment in the COMS trials for treatment of choroidal melanoma: Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26. *Arch Ophthalmol* 2005;123:1639-1643.

164. Stålhammar G, See TRO, Phillips S, Seregard S, Grossniklaus HE. Digital image analysis of BAP-1 accurately predicts uveal melanoma metastasis. *Transl Vis Sci Technol* 2019;8:11.

165. See TR, Stålhammar G, Phillips S, Grossniklaus HE. BAP1 Immunoreactivity Correlates with Gene Expression Class in Uveal Melanoma. *Ocul Oncol Pathol* 2020;6:129-137.

166. Herrspeigel C, See TRO, Mendoza PR, Grossniklaus HE, Stålhammar G. Digital morphometry of tumor nuclei correlates to BAP-1 status, monosomy 3, gene expression class and survival in uveal melanoma. *Exp Eye Res* 2020;193:107987.
167. Szalai E, Wells JR, Ward L, Grossniklaus HE. Uveal melanoma nuclear BRCA1-associated protein-1 immunoreactivity is an indicator of metastasis. *Ophthalmology* 2018;125:203–209.
168. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, McQuaid S, Gray RT, Murray LJ, Coleman HG, James JA, Salto-Tellez M, Hamilton PW. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* 2017;7:16878–16878.
169. Augsburger JJ, Gonder JR, Amsel J, Shields JA, Donoso LA. Growth rates and doubling times of posterior uveal melanomas. *Ophthalmology* 1984;91:1709–1715.
170. Farris RL. Tear osmolarity--a new gold standard? *Adv Exp Med Biol* 1994;350:495-503.
171. Tomlinson A, McCann LC, Pearce EI. Comparison of human tear film osmolarity measured by electrical impedance and freezing point depression techniques. *Cornea* 2010;29:1036-1041.
172. Gilbard JP, Carter JB, Sang DN, Refojo MF, Hanninen LA, Kenyon KR. Morphologic effect of hyperosmolarity on rabbit corneal epithelium. *Ophthalmology* 1984;91:1205-1212.
173. Gilbard JP, Rossi SR, Gray KL. A new rabbit model for keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:225-228.
174. Gilbard JP, Rossi SR, Gray KL, Hanninen LA, Kenyon KR. Tear film osmolarity and ocular surface disease in two rabbit models for keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:374-378.

175. Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302-4311.
176. Li DQ, Luo L, Chen Z, Kim HS, Song XJ, Pflugfelder SC. JNK and ERK MAP kinases mediate induction of IL-1beta, TNF-alpha and IL-8 following hyperosmolar stress in human limbal epithelial cells. *Exp Eye Res* 2006;82:588-596.
177. Luo L, Li DQ, Pflugfelder SC. Hyperosmolarity-induced apoptosis in human corneal epithelial cells is mediated by cytochrome c and MAPK pathways. *Cornea* 2007;26:452-460.
178. Berta A, Higazy MT, Petricek I, Prost ME. Red Eye: Differential diagnosis & management. *Internat Ophthalmol* 2008;28(Suppl 1):1-64.
179. Versura P, Profazio V, Campos EC. Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Curr Eye Res* 2010;35:553-564.
180. Messmer EM, Bulgen M, Kampik A. Hyperosmolarity of the tear film in dry eye syndrome. *Dev Ophthalmol* 2010;45:129-138.
181. Eldridge DC, Sullivan BD, Berg MD, Lemp A, Durrie DS. Longitudinal Variability of Tear Film Osmolarity in Normal and Dry Eye Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:3379.
182. Goto E, Matsumoto Y, Kamoi M, Endo K, Ishida R, Dogru M, Kaido M, Kojima T, Tsubota K. Tear evaporation rates in Sjögren syndrome and non-Sjögren dry eye patients. *Am J Ophthalmol* 2007;144:81-85.
183. Benelli U, Nardi M, Posarelli C, Albert TG. Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:61-67.
184. Wollheim FA. Classification of systemic sclerosis. Visions and reality. *Rheumatology* 2005;44:1212-1216.

185. Cockburn DM. Corneal and Other Ocular Changes in Progressive Systemic Scleroderma. *Clin Exp Optom* 1984;67:37-70.
186. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:349-363.
187. Sato S, Hayakawa I, Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K. Function blocking autoantibodies against matrix metalloproteinase-1 in patients with systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 2003;120:542–547.
188. Ho YY, Lagares D, Tager AM, Kapoor M. Fibrosis – a lethal component in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 2014;10:390-402.
189. Sahin Atik S, Koc F, Akin Sari S, Sefi Yurdakul N, Ozmen M, Akar S. Anterior segment parameters and eyelids in systemic sclerosis. *Int Ophthalmol* 2016;36:577-583.
190. Frech TM, Smith G, Reily M, Chamberlain J, Murtaugh MA, Penrod J, Battistone MJ, Stults BM. Peripheral neuropathy: A complication of systemic sclerosis. *Clin. Rheumatol* 2013;32:885–888.
191. Mayer WJ, Mackert MJ, Kranebitter N, Messmer EM, Grüterich M, Kampik A, Kook D. Distribution of antigen presenting cells in the human cornea: correlation of in vivo confocal microscopy and immunohistochemistry in different pathologic entities. *Curr Eye Res* 2012;37:1012-1018.
192. Kheirkhah A, Rahimi Darabad R, Cruzat A, Hajrasouliha AR, Witkin D, Wong N, Dana R, Hamrah P. Corneal Epithelial Immune Dendritic Cell Alterations in Subtypes of Dry Eye Disease: A Pilot In Vivo Confocal Microscopic Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:7179-7185.
193. Mocan MC, Irkec M, Mikropoulos DG, Bozkurt B, Orhan M, Konstas AG. In vivo confocal microscopic evaluation of the inflammatory response in non-epithelial herpes simplex keratitis. *Curr Eye Res* 2012;37:1099-1106.

194. Marsovszky L, Németh J, Resch MD, Toldi G, Legány N, Kovács L, Balog A. Corneal Langerhans cell and dry eye examinations in ankylosing spondylitis. *Innate Immun* 2014;20:471-477.
195. Marsovszky L, Resch MD, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. In vivo confocal microscopic evaluation of corneal Langerhans cell density, and distribution and evaluation of dry eye in rheumatoid arthritis. *Innate Immun* 2013;19:348-354.
196. Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Corneal Cellular and Neuroinflammatory Changes After SARS-CoV-2 Infection. *Cornea* 2022;41:879-885.
197. Luo J, Feng J, Liu S, Walters ET, Hu H. Molecular and cellular mechanisms that initiate pain and itch. *Cell Mol Life Sci* 2015;72:3201-3223.
198. Shetty R, Deshmukh R, Shroff R, Dedhiya C, Jayadev C. Subbasal Nerve Plexus Changes in Chronic Migraine. *Cornea* 2018;37:72-75.
199. Hosoi J, Murphy GF, Egan CL, Lerner EA, Grabbe S, Asahina A, Granstein RD. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. *Nature* 1993;363:159-163.
200. Sarac O, Kosekahya P, Yildiz Tasci Y, Keklikoglu HD, Deniz O, Erten Ş, Çağıl N. The Prevalence of Dry Eye and Sjögren Syndrome in Patients with Migraine. *Ocul Immunol Inflamm* 2017;25:370-375.
201. Yang S, Kim W, Kim HS, Na KS; Epidemiologic Survey Committee of the Korean Ophthalmologic Society. Association Between Migraine and Dry Eye Disease: A Nationwide Population-Based Study. *Curr Eye Res* 2017;42:837-841.
202. Arita R, Minoura I, Morishige N, Shirakawa R, Fukuoka S, Asai K, Goto T, Imanaka T, Nakamura M. Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction. *Am J Ophthalmol* 2016;169:125-137.

203. Liu S, Dong H, Fang S, Zhang L. Risk of dry eye in headache patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Med* 2022;54:2876-2885.
204. Choudhary R, Singh Kapoor M, Singh A, et al. Therapeutic targets of renin-angiotensin system in ocular disorders. *J Curr Ophthalmol* 2017;29:7–16.
205. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Sampaziotis F, Worlock KB, Yoshida M, Barnes JL; HCA Lung Biological Network. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 2020;26:681–687.
206. Kovacs A, Ipsen A, Manzel A, Linker RA. ACE2 drives dendritic cell function and neuroantigen specific immune responses. *Brain Behav Immun* 2013;29:S19.
207. Borges RC, Hohmann MS, Borghi SM. Dendritic cells in COVID-19 immunopathogenesis: insights for a possible role in determining disease outcome. *Int Rev Immunol* 2020;40:108–125.
208. Postole AS, Knoll AB, Auffarth GU, Mackensen F. In vivo confocal microscopy of inflammatory cells in the corneal subbasal nerve plexus in patients with different subtypes of anterior uveitis. *Br J Ophthalmol* 2016;100:1551–1556.
209. Tepelus TC, Chiu GB, Huang J, Huang P, Sadda SR, Irvine J, Lee OL. Correlation between corneal innervation and inflammation evaluated with confocal microscopy and symptomatology in patients with dry eye syndromes: a preliminary study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255:1771–1778.
210. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: A review. *Acta Orthop* 1987;58:145–169.
211. Minarelli J, Davis EL, Dickerson A, Moore WC, Mejia JA, Gugala Z, Olmsted-Davis EA, Davis AR. Characterization of neuromas in peripheral nerves and their effects on heterotopic bone formation. *Mol Pain* 2019;15:1744806919838191.

212. Moein HR, Akhlaq A, Dieckmann G, Abbouda A, Pondelis N, Salem Z, Müller RT, Cruzat A, Cavalcanti BM, Jamali A, Hamrah P. Visualization of microneuromas by using in vivo confocal microscopy: An objective biomarker for the diagnosis of neuropathic corneal pain? *Ocul Surf* 2020;18:651–656.
213. Al-Aqaba M, Alomar T, Lowe J, Dua HS. Corneal nerve aberrations in bullous keratopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;151:840–849.
214. Al-Aqaba MA, Otri AM, Fares U, Miri A, Dua HS. Organization of the regenerated nerves in human corneal grafts. *Am J Ophthalmol* 2012;153:29–37.
215. He J, Ogawa Y, Mukai S, Saijo-Ban Y, Kamoi M, Uchino M, Yamane M, Ozawa N, Fukui M, Mori T, Okamoto S, Tsubota K. In Vivo Confocal Microscopy Evaluation of Ocular Surface with Graft-Versus-Host Disease-Related Dry Eye Disease. *Sci Rep* 2017;7:10720.
216. Kalteniece A, Ferdousi M, Azmi S, Marshall A, Soran H, Malik RA. Keratocyte Density Is Reduced and Related to Corneal Nerve Damage in Diabetic Neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59:3584–3590.
217. Nath A. Long-Haul COVID. *Neurology* 2020;95:559–560.
218. Pryce-Roberts A, Talaei M, Robertson NP. Neurological complications of COVID-19: a preliminary review. *J Neurol* 2020;267:1870–1873.
219. Ellul MA, Benjamin L, Singh B, Lant S, Michael BD, Easton A, Kneen R, Defres S, Sejvar J, Solomon T. Neurological associations of COVID-19. *Lancet Neurol* 2020;19:767–783.
220. Lavia C, Mecê P, Nassisi M, Bonnin S, Marie-Louise J, Couturier A, Erginay A, Tadayoni R, Gaudric A. Retinal Capillary Plexus Pattern and Density from Fovea to Periphery Measured in Healthy Eyes with Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Sci Rep* 2020;10:1474.

221. Abrishami M, Emamverdian Z, Shoeibi N, Omidtabrizi A. Optical coherence tomography angiography analysis of the retina in patients recovered from COVID- 19: a case-control study. *Can J Ophthalmol* 2021;56:24–30.
222. Savastano MC, Gambini G, Cozzupoli GM, Crincoli E, Savastano A, De Vico U, Culiarsi C, Falsini B, Martelli F, Minnella AM, Landi F, Pagano FC, Rizzo S; Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Retinal capillary involvement in early post-COVID-19 patients: a healthy controlled study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2021;1:1–9.
223. Tavakoli M, Quattrini C, Abbott C, Kallinikos P, Marshall A, Finnigan J, Morgan P, Efron N, Boulton AJ, Malik RA. Corneal Confocal Microscopy A novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 2010;33:1792-1797.
224. Patel DV, McGhee CNJ. Mapping of the normal human corneal sub-basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4485-4488.
225. Brines M, Culver DA, Ferdousi M, Tannemaat MR, van Velzen M, Dahan A, Malik RA. Corneal nerve fiber size adds utility to the diagnosis and assessment of therapeutic response in patients with small fiber neuropathy. *Sci Rep* 2018;8:1-11.
226. Chen X, Graham J, Petropoulos IN, Ponirakis G, Asghar O, Alam U, Marshall A, Ferdousi M, Azmi S, Efron N, Malik RA. Corneal Nerve Fractal Dimension: A Novel Corneal Nerve Metric for the Diagnosis of Diabetic Sensorimotor Polyneuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59:1113-1118.
227. Ong JX, Kwan CC, Cicinelli MV, Fawzi AA. Superficial capillary perfusion on optical coherence tomography angiography differentiates moderate and severe nonproliferative diabetic retinopathy. *PLoS One* 2020;15:1-16.

228. Choi EY, Park SE, Lee SC, Koh HJ, Kim SS, Byeon SH, Kim M. Association Between Clinical Biomarkers and Optical Coherence Tomography Angiography Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61:4.
229. de Carlo TE, Chin AT, Bonini Filho MA, Adhi M, Branchini L, Salz DA, Bauman CR, Crawford C, Reichel E, Witkin AJ, Duker JS, Waheed NK. Detection of microvascular changes in eyes of patients with diabetes but not clinical diabetic retinopathy using optical coherence tomography angiography. *Retina* 2015;35:2364-2370.
230. Ebihara S, Machida S, Hara Y, Tada A, Ishizuka M, Gonmori M, Nishimura T. Relationships between the vascular structure and neural function of the macula in patients with diabetes mellitus. *Jpn J Ophthalmol* 2021;65:77-88.
231. Ghassemi F, Fadakari K, Berijani S, Babeli A, Gholizadeh A, Sabour S. Quantitative assessment of vascular density in diabetic retinopathy subtypes with optical coherence tomography angiography. *BMC Ophthalmol* 2021;21:1-13.
232. Qiu B, Zhao L, Zhang X, Wang Y, Wang Q, Nie Y, Chen X, Cheung CYL. Associations Between Diabetic Retinal Microvasculopathy and Neuronal Degeneration Assessed by Swept-Source OCT and OCT Angiography. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:778283.
233. Mrugacz M, Bryl A, Zorena K. Retinal vascular endothelial cell dysfunction and neuroretinal degeneration in diabetic patients. *J Clin Med* 2021;10:1-18.
234. Zoungas S, Woodward M, Li Q, Cooper ME, Hamet P, Harrap S, Heller S, Marre M, Patel A, Poulter N, Williams B, Chalmers J; ADVANCE Collaborative group. Impact of age, age at diagnosis and duration of diabetes on the risk of macrovascular and microvascular complications and death in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2014;57:2465-2474.
235. Jensen OA. Malignant melanomas of the uvea in Denmark 1943–1952. A clinical, histopathological, and prognostic study. *Acta Ophthalmol (Copenh) (Suppl)* 1963;75:1–220.

236. Davies WS. Malignant melanomas of the choroid and ciliary body. A clinicopathologic study. *Am J Ophthalmol* 1963;55:541–546.
237. Eagle RC Jr, Shields JA. Pseudoretinitis pigmentosa secondary to preretinal malignant melanoma cells. *Retina* 1982;2:51-55.
238. Daicker B. Melanosis retinae et papillae durch transretinal in den Glaskörper eingebrochenes malignes Aderhautmelanom. *Ophthalmologica* 1973;166:460–471.
239. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE. *Histology of the Human Eye. An Atlas and Textbook*. Philadelphia: Saunders, 1971, pp. 328–363.
240. Schraermeyer U, Addicks K, Kociok N, Esser P, Heimann K. Capillaries are present in Bruch's membrane at the ora serrata in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1076-1084.
241. Gunduz K, Shields CL, Shields JA, Cater J, Freire JE, Brady LW. Radiation complications and tumor control after plaque radiotherapy of choroidal melanoma with macular involvement. *Am J Ophthalmol* 1999;127:579-589.
242. Gündüz K, Shields JA, Shields CL, Eagle RC Jr. Cutaneous melanoma metastatic to the vitreous cavity. *Ophthalmology* 1998;105:600-605.
243. Spraul CW, Martin DF, Hagler WS, Grossniklaus HE. Cytology of metastatic cutaneous melanoma to the vitreous and retina. *Retina* 1996;16:328-332.
244. Kivelä T, Summanen P. Retinoinvasive malignant melanoma of the uvea. *Br J Ophthalmol* 1997;81:691-697.
245. Breazzano MP, Barker-Griffith AE. Features of Cutaneous Malignant Melanoma Metastatic to the Retina and Vitreous. *Ocul Oncol Pathol* 2015;2:80-85.
246. Cole EL, Zakov ZN, Meisler DM. Cutaneous malignant melanoma. *Arch Ophthalmol* 1986;104:98–101.

247. Rosenberg C, Finger PT. Cutaneous malignant melanoma metastatic to the eye, lids, and orbit. *Surv Ophthalmol* 2008;53:187–202.
248. Jaissle GB, Szurman P, Rohrbach JM, Gelissen F, Bartz-Schmidt KU. A case of cutaneous melanoma metastatic to the vitreous cavity: possible pathomechanism and review of the literature. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:733-740.
249. Shields CL, McMahon JF, Atalay HT, Hasanreisoglu M, Shields JA. Retinal metastasis from systemic cancer in 8 cases. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:1303-1308.
250. Gupta MP, Lane AM, DeAngelis MM, Mayne K, Crabtree M, Gragoudas ES, Kim IK. Clinical characteristics of uveal melanoma in patients with germline BAP1 mutations. *JAMA Ophthalmol* 2015;133:881–887.
251. Field MG, Harbour JW. Recent developments in prognostic and predictive testing in uveal melanoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2014;25:234-239.
252. Rai K, Pilarski R, Boru G, Rehman M, Saqr AH, Massengill JB, Singh A, Marino MJ, Davidorf FH, Cebulla CM, H Abdel-Rahman M. Germline BAP1 alterations in familial uveal melanoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2017;56:168-174.
253. Koopmans AE, Verdijk RM, Brouwer RW, van den Bosch TP, van den Berg MM, Vaarwater J, Kockx CE, Paridaens D, Naus NC, Nellist M, van IJcken WF, Kiliç E, de Klein A. Clinical significance of immunohistochemistry for detection of BAP1 mutations in uveal melanoma. *Mod Pathol* 2014;27:1321-1330.
254. Griewank KG, van de Nes J, Schilling B, Moll I, Sucker A, Kakavand H, Haydu LE, Asher M, Zimmer L, Hillen U, Thompson JF, Scolyer RA, Schadendorf D, Murali R. Genetic and clinico-pathologic analysis of metastatic uveal melanoma. *Mod Pathol* 2014;27:175-183.
255. Ewens KG, Kanetsky PA, Richards-Yutz J, Purrazzella J, Shields CL, Ganguly T, Ganguly A. Chromosome 3 status combined with BAP1 and EIF1AX mutation profiles are associated with metastasis in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5160-5167.

256. Pilarski R, Rai K, Cebulla C, Abdel-Rahman MH. BAP1 Tumor predisposition syndrome. 2016 Oct 13. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. (szerk). GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. Online elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK390611/?report=classic>
257. Cebulla CM, Binkley EM, Pilarski R, Massengill JB, Rai K, Liebner DA, Marino MJ, Singh AD, Abdel-Rahman MH. Analysis of BAP1 germline gene mutation in young uveal melanoma patients. *Ophthalmic Genet* 2015;36:126-31.
258. Höiom V, Edsgård D, Helgadottir H, Eriksson H, All-Ericsson C, Tuominen R, Ivanova I, Lundeberg J, Emanuelsson O, Hansson J. Hereditary uveal melanoma: a report of a germline mutation in BAP1. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52:378–384.
259. van de Nes JA, Nelles J, Kreis S, Metz CH, Hager T, Lohmann DR, Zeschnigk M. Comparing the prognostic value of BAP1 mutation pattern, chromosome 3 status, and BAP1 immunohistochemistry in uveal melanoma. *Am J Surg Pathol* 2016;40:796-805.
260. Joseph RW, Kapur P, Serie DJ, Eckel-Passow JE, Parasramka M, Ho T, Cheville JC, Frenkel E, Rakheja D, Brugarolas J, Parker A. Loss of BAP1 protein expression is an independent marker of poor prognosis in patients with low-risk clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2014;120:1059–1067.
261. Hakiri S, Osada H, Ishiguro F, Murakami H, Murakami-Tonami Y, Yokoi K, Sekido Y. Functional differences between wild-type and mutant-type BRCA1-associated protein 1 tumor suppressor against malignant mesothelioma cells. *Cancer Sci* 2015;106:990-999.
262. Ventii KH, Devi NS, Friedrich KL, Chernova TA, Tighiouart M, Van Meir EG, Wilkinson KD. BRCA1-associated protein-1 is a tumor suppressor that requires deubiquitinating activity and nuclear localization. *Cancer Res* 2008;68:6953–6962.

263. Matattal KA, Agapova OA, Onken MD, Worley LA, Bowcock AM, Harbour JW. BAP1 deficiency causes loss of melanocytic cell identity in uveal melanoma. *BMC Cancer* 2013;13:371.
264. Onken MD, Worley LA, Char DH, Augsburger JJ, Correa ZM, Nudleman E, Aaberg TM Jr, Altaweel MM, Bardenstein DS, Finger PT, Gallie BL, Harocopos GJ, Hovland PG, McGowan HD, Milman T, Mruthyunjaya P, Simpson ER, Smith ME, Wilson DJ, Wirostko WJ, Harbour JW. Collaborative Ocular Oncology Group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma. *Ophthalmology* 2012;119:1596-1603.
265. Michor F, Nowak MA, Iwasa Y. Stochastic dynamics of metastasis formation. *J Theor Biol* 2006;240:521-530.
266. Walter SD, Chao DL, Feuer W, Schiffman J, Char DH, Harbour JW. Prognostic Implications of Tumor Diameter in Association With Gene Expression Profile for Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol* 2016;134:734-740.
267. Caminal JM, Mejía K, Arias L, Masuet-Aumatell C, Larrucea-Maseda J, Modolell I, Lorenzo D, Català J, Rubio M, Cobos E, Garcia-Bru P, Flores I, Filloy A, Arruga J. Tumor Volumes in Choroidal Melanoma: Agreement Between Three-Dimensional Ultrasound and Two Mathematical Models. *Am J Ophthalmol* 2016;166:181-188.
268. Singh AD, Terman S, Sculley L. Estimating choroidal melanoma volume: comparison of methods. *Ophthalmology* 2007;114:1212-1214.
269. Jackson AL, Loeb LA. The mutation rate and cancer. *Genetics* 1998;148:1483-1490.
270. Williams MJ, Werner B, Barnes CP, Graham TA, Sottoriva A. Identification of neutral tumor evolution across cancer types. *Nat Genet* 2016;48:238-244.
271. Gass JD. Comparison of uveal melanoma growth rates with mitotic index and mortality. *Arch Ophthalmol* 1985;103:924-931.

272. Char DH, Kroll S, Phillips TL. Uveal melanoma. Growth rate and prognosis. *Arch Ophthalmol* 1997;115:1014–1018.
273. Carlson JA. Tumor doubling time of cutaneous melanoma and its metastasis. *Am J Dermatopathol* 2003;25:291-299.
274. Arai T, Kuroishi T, Saito Y, Kurita Y, Naruke T, Kaneko M. Tumor doubling time and prognosis in lung cancer patients: evaluation from chest films and clinical follow-up study. Japanese Lung Cancer Screening Research Group. *Jpn J Clin Oncol* 1994;24:199-204.
275. Tubiana M. Tumor cell proliferation kinetics and tumor growth rate. *Acta Oncol* 1989;28:113-121.
276. Tomlinson IP, Novelli MR, Bodmer WF. The mutation rate and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14800-14803.
277. Seshadri R, Kutlaca RJ, Trainor K, Matthews C, Morley AA. Mutation rate of normal and malignant human lymphocytes. *Cancer Res* 1987;47:407-409.
278. Tannock IF. Biology and tumor growth. *Hosp Pract (Off Ed)* 1983;18:81-93.
279. Grossniklaus HE. Understanding uveal melanoma metastasis to the liver: the Zimmerman effect and the Zimmerman hypothesis. *Ophthalmology* 2019;126:483–487.
280. Bononi A, Yang H, Giorgi C, Patergnani S, Pellegrini L, Su M, Xie G, Signorato V, Pastorino S, Morris P, Sakamoto G, Kuchay S, Gaudino G, Pass HI, Napolitano A, Pinton P, Jia W, Carbone M. Germline BAP1 mutations induce a Warburg effect. *Cell Death Differ* 2017;24:1694–1704.
281. Vader MJC, Madigan MC, Versluis M, Suleiman HM, Gezgin G, Gruis NA, Out-Luiting JJ, Bergman W, Verdijk RM, Jager MJ, van der Velden PA. GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *Br J Cancer* 2017;117:884–887.

282. Nell RJ, Menger NV, Versluis M, Luyten GPM, Verdijk RM, Madigan MC, Jager MJ, van der Velden PA. Involvement of mutant and wild-type CYSLTR2 in the development and progression of uveal nevi and melanoma. *BMC Cancer* 2021;21:164.
283. Carbone M, Yang H, Pass HI, Krausz T, Testa JR, Gaudino G. BAP1 and cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13:153–159.
284. Wang T, Lu R, Kapur P, Jaiswal BS, Hannan R, Zhang Z, Pedrosa I, Luke JJ, Zhang H, Goldstein LD, Yousuf Q, Gu YF, McKenzie T, Joyce A, Kim MS, Wang X, Luo D, Onabolu O, Stevens C, Xie Z, Chen M, Filatenkov A, Torrealba J, Luo X, Guo W, He J, Stawiski E, Modrusan Z, Durinck S, Seshagiri S, Brugarolas J. An empirical approach leveraging tumorgrafts to dissect the tumor microenvironment in renal cell carcinoma identifies missing link to prognostic inflammatory factors. *Cancer Discov* 2018;8:1142–1155.
285. Durante MA, Rodriguez DA, Kurtenbach S, Kuznetsov JN, Sanchez MI, Decatur CL, Snyder H, Feun LG, Livingstone AS, Harbour JW. Single-cell analysis reveals new evolutionary complexity in uveal melanoma. *Nat Commun* 2020;11:496.
286. Bakhoun SF, Ngo B, Laughney AM, Cavallo JA, Murphy CJ, Ly P, Shah P, Sriram RK, Watkins TBK, Taunk NK, Duran M, Pauli C, Shaw C, Chadalavada K, Rajasekhar VK, Genovese G, Venkatesan S, Birkbak NJ, McGranahan N, Lundquist M, LaPlant Q, Healey JH, Elemento O, Chung CH, Lee NY, Imielenski M, Nanjangud G, Pe'er D, Cleveland DW, Powell SN, Lammerding J, Swanton C, Cantley LC. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response. *Nature* 2018;553:467–472.
287. Grossniklaus HE. Tumor vascularity and hematogenous metastasis in experimental murine intraocular melanoma. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1998;96:721–752.
288. Stålhammar G, See TRO, Phillips SS, Grossniklaus HE. Density of PAS positive patterns in uveal melanoma: Correlation with vasculogenic mimicry, gene expression class, BAP-1 expression, macrophage infiltration, and risk for metastasis. *Mol Vis* 2019;25:502–516.

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 mikrovaszkuláris és neurodegeneratív eltérései

8. Kolkedi 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. Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Corneal Cellular and Neuroinflammatory Changes After SARS-CoV-2 Infection. Cornea. 2022; 41:879-885. IF: 2,800
10. Kolkedi 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

Egyéb, jelen értekezéshez nem felhasznált, angol nyelvű közlemények listája

1. Módis Jr L, Szalai E, Németh G, Berta A. Evaluation of a recently developed noncontact specular microscope in comparison with conventional pachymetry devices. Eur J Ophthalmol 2010; 20:831-838.
2. Nemeth G, Hassan Z, Szalai E, Berta A, Modis L Jr. Comparative analyses of white-to-white and angle-to-angle distance measurements with IOLMaster and Visante OCT. J Cataract Refract Surg. 2010; 36:1862-1866.

3. Szalai E, Németh G, Berta A, Módis Jr L. Evaluation of the corneal endothelium using noncontact and contact specular microscopy. *Cornea* 2011; 30:567-570.
4. Módis Jr L, Szalai E, Németh G, Berta A. Reliability of the corneal thickness measurements with the Pentacam HR imaging system and ultrasound pachymetry. *Cornea* 2011; 30:561-566.
5. Szalai E, Berta A, Németh G, Hassan Z, Módis L. Anterior chamber depth measurements obtained with Pentacam HR imaging system and conventional A-scan ultrasound. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2011; 42:248-253.
6. Módis Jr L, Szalai E, Kolozsvári B, Németh G, Vajas A, Berta A. Keratometry evaluations with the Pentacam HR in comparison with automated keratometry and conventional corneal topography. *Cornea* 2012; 31:36-41.
7. Módis Jr. L, Szalai E, Facskó A, Fodor M, Komár T, Berta A. Corneal transplantation in Hungary (from the beginning to nowadays, 1946-2009). *Clin Exp Ophthalmol* 2011; 39:520-525.
8. Szalai E, Berta A, Hassan Z, Módis Jr L. Reliability and repeatability of swept source Fourier domain optical coherence tomography and Scheimpflug photography in keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2012; 38:485-494.
9. Németh G, Hassan Z, Módis L, Szalai E, Katona K, Berta A. Comparison of anterior chamber depth measurements conducted with Pentacam HR and IOLMaster. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2011; 42:144-147.
10. Szalai E, Felszeghy S, Hegyi Z, Módis L Jr, Berta A, Kaarniranta K. Fibrillin-2, tenascin-C, matrilin-2, and matrilin-4 are strongly expressed in the epithelium of human granular and lattice type I corneal dystrophies. *Mol Vis* 2012; 18:1927-1936.
11. Németh G, Hassan Z, Szalai E, Berta A, Módis Jr L. Anterior segment parameters measured with 2 optical devices compared to ultrasonic data. *Eur J Ophthalmol* 2013; 23:177-182.

12. Hassan Z, Nemeth G, Modis Jr L, Szalai E, Berta A. Collagen cross-linking in the treatment of pellucid marginal degeneration. *Indian J Ophthalmol* 2013; 4:1-3.
13. Nemeth G, Hassan Z, Szalai E, Berta A, Modis L Jr. Analysis of age-dependence of the anterior and posterior cornea with Scheimpflug imaging. *J Refract Surg.* 2012; 29:326-331.
14. Hassan Z, Nemeth G, Modis L, Szalai E, Berta A. Assessment of corneal topography indices after collagen cross-linking for keratoconus. *Eur J Ophthalmol* 2013; 23:635-640.
15. Suranyi E, Berta A, Modis L, Szalai E, Damjanovich J. Does beta-ray emitting therapy of ciliary body tumors decrease central corneal endothelial cell density. *Eur J Ophthalmol.* 2013; 23:623-628.
16. Nemeth G, Hassan Z, Csutak A, Szalai E, Berta A, Modis L Jr. Repeatability of ocular biomechanical data measurements with a Scheimpflug-based noncontact device on normal corneas. *J Refract Surg.* 2013; 29:558-563.
17. Nemeth G, Szalai E, Berta A, Modis Jr L. Astigmatism prevalence and biometric analysis in normal population. *Eur J Ophthalmol.* 2013; 23:779-783.
18. Hassan Z, Szalai E, Berta A, Modis L Jr, Nemeth G. Assessment of tear osmolarity and other dry eye parameters in post-LASIK eyes. *Cornea* 2013; 32: 142-145.
19. Nemeth G, Lipecz A, Szalai E, Berta A, Modis L Jr. Accommodation in phakic and pseudophakic eyes measured with subjective and objective methods. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39:1534-1542.
20. Hassan Z, Modis L, Szalai E, Berta A, Nemeth G. Intraoperative and postoperative corneal thickness change after collagen crosslinking therapy. *Eur J Ophthalmol.* 2014; 24:179-85.
21. Hassan Z, Modis L, Szalai E, Berta A, Nemeth G. Scheimpflug imaged corneal changes on anterior and posterior surfaces after collagen cross-linking. *Int J Ophthalmol.* 2014; 7:313-6.

22. Hassan Z, Modis L Jr, Szalai E, Berta A, Nemeth G. Examination of ocular biomechanics with a new Scheimpflug technology after corneal refractive surgery. *Cont Lens Anterior Eye* 2014; 37:337-41.
23. Nemeth G, Berta A, Szalai E, Hassan Z, Modis L Jr. Analysis of surgically induced astigmatism on the posterior surface of the cornea. *J Refract Surg.* 2014; 30:604-8.
24. Nemeth G, Modis L Jr, Hassan Z, Szalai E, Berta A. Differences between the estimated and Scheimpflug image-measured axial intraocular lens positions and their relation to refractive error after cataract surgery. *J Refract Surg.* 2014; 30:1-2.
25. Szalai E, Kaarniranta K, Modis L Jr, Berta A, Smedowski A, Viiri J, Wowra B, Dobrowolski D, Wylegala E, Felszeghy S. Role of proteasomal proteolysis in the pathogenesis of macular corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: E-Abstract 1018.
26. Kaarniranta K, Szalai E, Smedowski A, Wylegala E, Felszeghy S. A novel proteotoxic stress-associated mechanism for macular corneal dystrophy. *Acta Ophthalmologica* 2014; 92: 0.
27. Nemeth G, Berta A, Lipecz A, Hassan Z, Szalai E, Modis L Jr. Evaluation of Posterior Astigmatism Measured With Scheimpflug Imaging. *Cornea* 2014; 33:1214-8.
28. Kaarniranta K, Szalai E, Smedowski A, Hegyi Z, Kivinen N, Viiri J, Wowra B, Dobrowolski D, MÓdis L Jr, Berta A, Wylegala E, Felszeghy S. A novel proteotoxic stress associated mechanism for macular corneal dystrophy. *Histol Histopathol.* 2015; 30:921-930.
29. Nemeth G, Szalai E, Hassan Z, Lipecz A, Berta A, Modis L Jr. Repeatability data and agreement of keratometry with the VERION System compared to the IOLMaster. *J Refract Surg.* 2015; 31:333-37.
30. Modis L Jr, Hassan Z, Szalai E, Flaskó Z, Berta A, Nemeth G. Ocular biomechanical measurements on post-keratoplasty corneas using a Scheimpflug-based noncontact device. *Int J Ophthalmol.* 2016; 9:235-8.

31. Kasza M, Meleg J, Vardai J, Nagy B Jr, Szalai E, Damjanovich J, Csutak A, Ujhelyi B, Nagy V. Plasma E-selectin levels can play a role in the development of diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017; 255:25-30.
32. Nemeth G, Szalai E, Hassan Z, Lipecz A, Flasko Z, Modis L. Corneal biomechanical data and biometric parameters measured with Scheimpflug-based devices on normal corneas. *Int J Ophthalmol*. 2017; 10:217-22.
33. Szalai E, Németh G, Hassan Z, Módis L Jr. Noncontact Evaluation of Corneal Grafts: Swept-Source Fourier Domain OCT Versus High-Resolution Scheimpflug Imaging. *Cornea*. 2017; 36:434-9.
34. Tucker SH, Szalai E, Rivellese M, Grossniklaus H. Ring-Shaped Leiomyoma of the Ciliary Body. *Ocul Oncol Pathol*. 2017; 3:250-3.
35. Módis L Jr, Németh G, Szalai E, Flaskó Z, Seitz B. Scanning-slit topography in patients with keratoconus. *Int J Ophthalmol*. 2017; 10:1686-92.
36. Siegel DT, Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE. Scleral Thinning after Transscleral Biopsy for Uveal Melanoma Using Lamellar Scleral Flap. *Ocul Oncol Pathol*. 2018; 4: 381-7.
37. Suranyi E, Nagy V, Berta A, Matyus J, Szalai E, Ujhelyi B, Meleg J, Damjanovich J. Alport Patients without Classic Ocular Symptoms Have Smaller Lens Diameter. *Med Sci Monit*. 2019; 25: 2274-7.
38. Seigel GM, Shah DK, Mendoza P, Szalai E, Grossniklaus H, Song Y, Shan J. In situ analysis of Her2 DNA and RNA in retinoblastoma and adjacent retina. *Oncoscience*. 2019; 6:357-66.
39. Szalai E, Nickerson JM, Grossniklaus HE. RPE Histopathology and Morphometry. In: *Retinal Pigment Epithelium in Health and Disease*, Klettner AK & Dithmar S. (szerk.) Springer, Cham, 2020.

40. Szalai E, Toth N, Kolkedi Z, Varga C, Csutak A. Comparison of various intraocular lens formulas using a new high-resolution swept-source optical coherence tomographer. J Cataract Refract Surg. 2020; 46: 1138-1141.
41. Szalai E, Csutak A, Lengyel Z. Complete resolution of bilateral choroidal metastases of cutaneous melanoma with combined targeted therapy. Retina. 2021; 41: e30-e31.
42. Szalai E, Csutak A. Comparative analysis of two optical biometry devices: high wavelength swept source OCT versus partial coherence interferometry. Int Ophthalmol. 2022; 42:627-634.
43. Kiss F, Pohóczky K, Görbe A, Dembrovszky F, Kiss S, Hegyi P, Szakó L, Tóth L, Somogyiné Ezer É, Szalai E, Helyes Z. Addition of EGFR inhibitors to standard chemotherapy increases survival of advanced head and neck squamous cell carcinoma patients: a systematic review and meta-analysis. Oral Dis. 2023;29:1905-1919.
44. Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Ocular Manifestations of Hurler-Scheie Syndrome: Recurrence of Host Disease in the Corneal Transplant. Mol Syndromol. 2023;14:44-50.
45. Kozma K, Dömötör ZR, Csutak A, Szabó L, Hegyi P, Eröss B, Helyes Z, Molnár Z, Dembrovszky F, Szalai E. Topical pharmacotherapy for ocular surface squamous neoplasia: systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2022;12:14221.
46. Szalai E. Mitotic figure in conjunctival squamous cell carcinoma. Eye (Lond). 2024 doi: 10.1038/s41433-024-02935-3. (Közlésre elfogadva)

Egyéb, jelen értekezéshez nem felhasznált, magyar nyelvű közlemények listája

1. Módis L, Kettesy B, Szalai E, Fodor M, Berta A. [Experiences with endothelial keratoplasty.] [Hungarian] Szemészet 2009; 146:35-41.

2. Szalai E, Berta A, Németh G, Kolozsvári B, Vajas A, Módis L. [Keratometry examinations with Scheimpflug-camera, automated kerato-refractometry and corneal topography.] [Hungarian] Szemészet 2010; 147:3-8.
3. Hassan Z, Simon L, Szalai E, Németh G, Berta A, Módis L. [The effect of collagen cross-linking in the treatment of keratoconus.] [Hungarian] Szemészet 2010; 147:143-149.
4. Hassan Z, Simon L, Szalai E, Berta A, Módis L. [Comparative study of LASIK and PRK treatment results.] [Hungarian] Szemészet 2010; 147:149-155.
5. 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.
6. Szalai E, Berta A, Hassan Z, Módis L. [Evaluation of the ocular surface after penetrating keratoplasty.] [Hungarian] Szemészet 2011; 148:169-174.
7. Németh G, Hassan Z, Szalai E, Berta A, Módis L. [Examination of biomechanics of normal corneas with Scheimpflug-based imaging.] [Hungarian] Szemészet 2013; 2:80-84.
8. Módis L, Szalai E, Takács L, Kettesy B, Németh G. [Diagnosis and treatment of keratoconus.] [Hungarian] Szemészet 2015; 152:34-51.
9. Módis L, Szalai E, Flaskó Z, Kolozsvári B, Berta A. [Femtosecond laser-assisted keratoplasty.] [Hungarian] Orv Hetil. 2018; 159:671-676.
10. Szalai E. [First experiences with local interferon alpha-2b immunotherapy in ocular surface neoplasias.] [Hungarian] Szemészet 2019; 1: 28-34.
11. Tóth G, Szalai E, Csákány B, Hécz R, Sándor GL, Lukáts O, Nagy ZZs, Szentmáry N. [Differential diagnosis and management of melanocytic lesions of the ocular surface.] [Hungarian] Orv Hetil. 2020; 161: 563–574.
12. Gaál V, Kölkedi Z, Szapáry L, Csutak A, Szalai E. Akut arteria centralis retinae elzáródás; Az ocularis stroke induló terápiás programja [Acute central retinal artery occlusion:

szalaieszter_198_24

Proposed therapeutic approach for ocular stroke]. Orv Hetil. 2021; 162: 1871-1875.

Hungarian.

SCIENTOMETRIA

Könyvrészek 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

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom **Dr. Berta András** Professzor Úrnak, a DEKK Szemklinika egykori intézetvezető egyetemi tanárának, hogy a szemészeti tudományos és klinikai pályámat Intézetében kezdhettem meg.

Szeretnék köszönetet mondani **Dr. Csutak Adrienne** Professzornőnek, aki a PTE Szemészeti Klinika intézetvezetőjeként lehetőséget adott a kutatási, oktatási és klinikai tevékenységem folytatására és abban mind szakmailag, mind emberileg messzemenően támogatott.

Köszönöm korábbi témavezetőmnek, **Dr. Módis László** Professzor Úrnak, hogy tudományos és gyógyító pályámon elindított és legfontosabb kezdeti éveimben nélkülözhetetlen útmutatásokkal szolgált, tudományos érdeklődésemet felkeltette és a jó hangulatú közös munka során mindvégig motivált és tanácsaival segített.

Hálás köszönetem **Dr. Hans E. Grossniklaus** Professzor Úrnak, az atlantai Emory Egyetem Szemészeti Onkológia és Patológia részleg vezetőjének és az L.F. Montgomery Laboratórium alapítójának, aki az Intézetében eltöltött 13 hónap alatt önzetlen támogatásáról biztosított és különleges tudományos, illetve klinikai szemléletmódot tanított.

Köszönet illeti **Dr. Damjanovich Judit** Tanárnőt, aki klinikai érdeklődésemet az onkológia felé irányította, valamint **Dr. Németh Gábort** a sokéves közös kutatási tevékenységért. Nem utolsó sorban szeretnék megemlékezni **Dr. Kemény-Beke Ádámról**, akinek hálásan köszönöm a betegellátásban és tudományos téren együtt végzett munkát.

Köszönöm PhD hallgatóimnak, **Dr. Kölkedi Zsófiának**, **Dr. Kozma Kincsónek**, **Dr. Patzkó Ágnesnek** és **Dr. Lakosa Alinának** a lelkesedést és támogatást. Köszönettel tartozom továbbá a DEKK Szemklinika és PTE KK Szemészeti Klinika összes munkatársának, akik a segítségemre voltak az évek során mind klinikai, mind tudományos tevékenységemben.

szalaieszter_198_24

Köszönöm az Innovációs és Technológiai Minisztérium (ÚNKP-23-5 kódszámú) *Új Nemzeti Kiválóság Programjának* a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs alpból finanszírozott szakmai támogatását, a *Pécsi Tudományegyetem ÁOK-KA-2021-14* pályázatának és a Magyar Tudományos Akadémia *Bolyai János Kutatási Ösztöndíj* támogatását.

Végezetül szeretném megköszönni **Családomnak** a szeretetüket, megértésüket és a biztatást, valamint hogy egész életemben számíthattam Rájuk és mindig mellettem álltak.