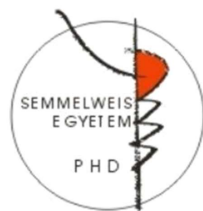


# Az ép és kóros szaruhártya vizsgálata konfokális mikroszkóppal

Doktori tézisek

**Dr. Imre László**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulens:	Dr. Süveges Ildikó DSc, egyetemi tanár
Hivatalos bírálók:	Dr. Récsán Zsuzsa PhD, egyetemi docens Dr. Vámosi Péter PhD, főorvos
Szigorlati bizottság elnöke:	Dr. Fidy Judit az MTA doktora, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai:	Dr. Kapocsi Judit PhD, egyetemi docens Dr. Milibák Tibor PhD, főorvos

Budapest

2016

## 1 Bevezetés

A cornea sejtrétegeinek in vivo morfológiai vizsgálata csak a sejtbiológiában már használatos konfokális mikroszkóp szemészeti célokra történt módosítása után vált lehetségessé, mintegy 15-20 évvel ezelőtt. Jelenleg ez az egyetlen vizsgálóeszköz, mely kb. 800-szoros nagyításával és magas, 1-2 $\mu$ m-es felbontóképességével in vivo sejszintű vizsgálatokat tesz lehetővé. Ez a vizsgálmódszer széles távlatokat nyitott az ép és kóros cornea szerkezet nem invazív módon, élőben történő megismerésére. A módszer egyik fő előnye, hogy a cornea különböző sejtrétegeiről még mérsékelt borús cornea esetén is elfogadható minőségű és értékelhető felvételek készíthetők. A konfokális corneamikroszkópia az endothel sejtréteg vizsgálatának és az Acanthamoeba keratitis korai diagnosztikájának kivételével ma még mindig főképp tudományos célú vizsgálatokra használt módszer. A mindennapi klinikai gyakorlatban a szemorvos számára egyelőre csak kevés esetben nyújt közvetlen diagnosztikus segítséget. Klinikánk 1997 óta rendelkezik konfokális corneamikroszkóppal, azóta foglalkoztatnak a cornea nagy nagyítású in vivo morfológiai vizsgálatában rejlő lehetőségek.

Az ép cornea in vivo konfokális corneamikroszkópos szerkezete

Az in vivo konfokális corneamikroszkópia hazánkban még kevésbé ismert vizsgálómódszer. Így indokoltnak tartottam jelen értekezésben a vizsgálómódszer és az ép cornea in vivo mikroszkópos szerkezetének részletes ismertetését.

A konfokális corneamikroszkópia reprodukálhatósága, megbízhatósága

Széles körben elfogadottnak tekintik, hogy a konfokális corneamikroszkópia jól reprodukálható, megbízható vizsgálómódszer. Meglepő azonban, hogy szemben az endothelmikroszkópok klinikai gyakorlatban való elterjedésével, amikor számos közlemény foglalkozott az endothelmikroszkópok megbízhatóságával és reprodukálhatóságával, a konfokális corneamikroszkóppal kapcsolatban hasonló közlemények nem születtek. Így, bár a klinikai gyakorlat alátámasztja a módszer megbízhatóságát és reprodukálhatóságát, saját vizsgálataink előtt tudományos közlemény ezt nem igazolta.

Keratoplasztikák vizsgálata

Keratoplasztikák után a tiszta transzplantátumok egyes sejtrétegeiben hosszú idő után kialakuló morfológiai változásokról – az endothel sejtréteg kivételével – még viszonylag kevés adat gyűlt össze. Az endothel sejtréteg keratoplasztikát követő változásai és azok időbeli lefolyása endothelmikroszkópos vizsgálatok alapján régóta ismertek, úgymint az

endothel sejtsűrűség csökkenése, a fokozott polimegetizmus és pleomorfizmus. Az endothelmikroszkópos tanulmányok a felszínes epithelsejtek egyes eltéréseit is kimutatták. A konfokális corneamikroszkópos vizsgálatokkal kapcsolatos közlemények elsősorban a rejekciós reakció korai felismerésével, a cornea idegek regenerációjával, valamint a donor corneák szerkezetével foglalkoztak. Olyan közleményt, mely a tiszta transzplantátumok minden sejtrétegét és azok időbeli változását egyidejűleg és hosszú követési idő után tanulmányozta volna, saját vizsgálatainkat megelőzően nem publikáltak.

#### Cornea diabetes mellitusban

Diabetes mellitusban szenvedő betegek között klinikailag ismert jelenség a cornea kóros sebgyógyulása, recidiváló erosiora való hajlam, mely különösen intraocularis műtétek után gyakori, de spontán is előfordulhat. Endothelmikroszkópos vizsgálatok alapján ismertek a cornea endothel eltérései is. Az endothel sejtsűrűség csökkenésének megítélése ellentmondásos az irodalomban, a fokozott polimegetizmus és pleomorfizmus viszont általánosan észlelhető. A cornea egyéb sejtrétegeinek elváltozásai diabetes mellitusban kevésbé ismertek, konfokális corneamikroszkóppal a subepithelialis idegplexus eltéréseit, a basalis epithelsejtek sűrűségének csökkenését, a Langerhans sejtek fokozott számát, valamint a keratocyták számának csökkenését is leírták. Az eddigi eredmények azonban részben ellentmondásosak, részben megerősítésre szorulnak.

#### Hosszú távú kontaktlencse viselés

A lencseviseléssel kapcsolatban publikálták az epithel ödémáját és mikrociszták kialakulását, a felszínes hámsejtek fokozott desquamatioját, az epithel elvékonyodását és a cornea vastagság csökkenését is, valamint az elülső stroma keratocyta sűrűség csökkenését is. A cornea endothel változásai a legismertebbek. Minden lencsetípus esetén az endothel fokozott polimegetizmusát és pleomorfizmusát írták le, bár az endothel sejtsűrűség szignifikáns csökkenését általában nem észlelték. A cornea epithel sejtrétegében és a stromában apró, reflektív képződményeket, ún. micro dot depozitumokat is leírták.

#### Acanthamoeba keratitis

A betegség súlyos lefolyása és rossz prognózisa miatt nagyon fontos lenne annak korai diagnózisa, mely hagyományos módon a cornea kaparéka citológiai vizsgálatán és tenyésztésen alapul. In vivo konfokális corneamikroszkóp használatával kimutatták az Acanthamoeba cisztákat a corneában, azonban az egyéb gyulladással járó kórképek és az

Acanthamoeba keratitis biztos elkülönítése céljából további vizsgálatok indokoltak a még pontosabb in vivo mikroszkópos diagnózis érdekében.

Jelen munkával az volt a célom, hogy a saját tapasztalataim és a nemzetközi publikációk alapján bemutassam a konfokális corneamikroszkópia alapjait, az ép cornea in vivo mikroszkópos szerkezetét, és saját tudományos eredményeim felhasználásával hozzájáruljak ahhoz, hogy a cornea egyes kóros állapotaiban az eddigénél szélesebb körben és eredményesebben használhassuk e sokat ígérő morfológiai vizsgálmódszert a szemorvosi gyakorlatban.

## 2 Célkitűzés

### 2.1 A CCM reprodukálhatóságának és megbízhatóságának vizsgálata

Célkitűzésünk az in vivo konfokális corneamikroszkópia megbízhatóságának és reprodukálhatóságának vizsgálata volt, melyről legjobb tudásunk szerint az irodalomban nem jelent meg közlemény. Vizsgálatainkhoz a cornea endothel rétegét választottuk, melynek értékelése technikai okok miatt a legkézenfekvőbb volt. Jelen munkánkban nem törekedtünk az endothelmikroszkóppal való összehasonlításra, kizárólag a konfokális mikroszkóppal nyert képek analizésére szorítkoztunk.

### 2.2 Keratoplasztikák vizsgálata

Célunk az volt, hogy saját anyagunkban, konfokális corneamikroszkópia segítségével tanulmányozzuk keratoplasztika után a tiszta transzplantátumok minden sejtrétegét. A korábban már ismert irodalmi adatok tükrében megállapítsuk, hogy a posztoperatív subklinikai morfológiai változások a cornea minden rétegét érintik-e, és milyen azok időbeli változása hosszú követési idő után.

### 2.3 Diabetesek betegek corneáinak vizsgálata

Célunk annak tanulmányozása volt, hogy diabetesek betegek corneáiban konfokális mikroszkóppal kimutathatók-e az eddig már ismert, de részben ellentmondásos morfológiai eltérések az epithel basalis sejteiben, a Bowman réteg idegplexusaiban, az elülső és hátsó stroma keratocytáiban és az endothel sejtrétegben ép corneákkal összehasonlítva, és ezekkel az eltérésekkel magyarázható-e a diabetesek betegek corneáinak fokozott sérülékenysége, hámgyógyulási zavara.

## 2.4 Hosszú távú kontaktlencse viselés corneális hatásainak vizsgálata

Jelen munkánkban in vivo konfokális corneamikroszkópia segítségével kívántuk tanulmányozni a tünet és panaszmentes hosszú távú kontaktlencse viselés során észlelhető elváltozásokat a cornea egyes rétegeiben. Kíváncsiak voltunk az eltérések mértékére, valamint arra, hogy lágú és PMMA lencseviselők között észlelhetők-e különbségek.

## 2.5 Acanthamoeba keratitis

Célunk Acanthamoeba keratitisben szenvedő betegek corneáiban az Acanthamoeba ciszták és trophozoiták nem invazív, konfokális corneamikroszkóppal való in vivo kimutatása, a kórokozó és az általa okozott eltérések morfológiai, mikroszkópos szintű jellegzetességeinek meghatározása a minél korábbi és pontosabb diagnózis érdekében.

## 3 Módszerek

### 3.1 A CCM reprodukálhatóságának és megbízhatóságának vizsgálata

12 egészséges személy 12 ép, jobb szemét vizsgáltuk, átlagéletkoruk  $39 \pm 19$  (17-78) év volt. A távoli látóélesség minden esetben korrekció nélkül teljes volt. Az endothel képek manuális és automatikus értékeléséhez  $151 \times 124 \mu\text{m}$ -es keretet (RoI –Region of Interest) választottunk, (fixed - frame analysis). A keretet a képen belül a legjobban értékelhető endothel sejtek területén helyeztük el. Az automatikus értékeléshez a készülék beépített Cell and Layer Analyzer (CLA) szoftverét használtuk, utólagos manuális sejthatár korrekciót nem alkalmaztunk.

A vizsgálatok során két csoportot alakítottunk ki. Az első csoportban minden egyes páciens egy vizsgálatából származó két különböző endothel felvételt egyazon vizsgáló értékelt, manuális és automatikus módban. A második csoportban minden vizsgált személy egy endothel felvételét (mely az első csoport második felvételével volt azonos) értékelt egymástól függetlenül két vizsgáló manuális és automatikus módban is. Értékeltek az endothel sejtdenzitást, a kereten belül értékelt sejtek számát, az átlagos sejtfelszínt, és a sejtfforma variációs koefficiensét (CV). Összehasonlítottuk az automatikus és manuális értékelési módokat is. A statisztikai vizsgálatokat SPSS for Windows 7.5 és Microsoft Excel 7.0 programokkal végeztük. A csoportok és vizsgálatok közötti különbségeket 2-mintás párosított Student féle t-próba segítségével állapítottuk meg, a különbséget akkor

tartottuk szignifikánsnak, ha  $p < 0,05$  (95% CI) volt. A vizsgálatok közötti lineáris kapcsolat szorosságát Pearson korrelációval vizsgáltuk. A megbízhatósági koefficiens (Mk) meghatározására a Cronbach  $\alpha$  tesztet használtuk.

## 3.2 Keratoplasztikák vizsgálata

Klinikánkon 1997-98 között végzett perforáló keratoplasztikák közül 1999-ben (első vizsgálat, követési idő 15 hónap) 25 beteg 25 szemén végeztük vizsgálatainkat. A vizsgálatba csak olyan betegeket vontunk be, akiknél mind a műtét, mind a posztoperatív gyógyulás teljesen zavartalan volt, hogy kizárjuk a komplikációk okozta hatásokat. Vizsgálatainkat 2003-ban megismételtük (második vizsgálat, követési idő 66 hónap). A 25 betegből különböző okok miatt már csak 7 betegen tudtuk megismételni vizsgálatainkat. A továbbiakban ezért csak ezen 7 beteg vizsgálatával foglalkozunk.

Betegeink átlagéletkora a második vizsgálat idején  $59,9 \pm 20,5$  (38 - 91) év volt. Az átlagos követési idő az első vizsgálat idején  $15 \pm 7,6$  (7-24) hónap, a második vizsgálat idején  $66 \pm 6,9$  (55-74) hónap volt. A betegek preoperatív diagnózisa keratoconus ( $n=2$ ), cornea dystrophia ( $n=2$ ), pseudophakias bullosus keratopathia (ACL) ( $n=2$ ), cornea ulcus ( $n=1$ ) volt. Egyéb, a PKP prognózisát kedvezőtlenül befolyásoló szembetegséget nem észleltünk. Az elvégzett műtétek megoszlása a következő volt: 5 esetben perforáló keratoplasztika, 1 esetben keratoplasztika és ACL csere, 1 esetben pedig keratoplasztika, ACL explantáció és sulcusfixált PCL implantáció történt. A corneák donorainak átlagéletkora  $54,2 \pm 9,3$  (40-75) év volt. A tárolófolyadék 5 esetben Medium, 2 esetben Optisol-GS volt, a tárolás átlagos ideje  $9 \pm 4$  (2-20) nap volt. A recipiens korongot minden esetben kézi trepánnal távolítottuk el. A donor korongokat viscoelastikus anyag védelmében szintén kézi trepánnal az endothel felől trepanáltuk. A recipiens/donor korongok mérete keratoconusos betegek esetén  $7,0/7,0\text{mm}$ , egyéb esetekben  $7,0/7,5\text{mm}$  volt. A donor corneát buktatott csomós, egyszerű tovafutó  $10/0$ -s nylon varrattal rögzítettük. Intraoperatív és posztoperatív szövödményt és hámosodási zavart nem észleltünk. Vizsgálatainkat Tomey ConfoScan P4 slit-scanning típusú in vivo konfokális corneamikroszkóppal végeztük. Minden esetben a cornea centrumát vizsgáltuk, itt értékeltük a cornea epithel rétegeit, a Bowman membránt, a subepithelialis idegeket, az elülső és hátsó stroma keratocytáit, valamint az endothel réteget. Számításainkat Microsoft Excel 7.0. táblázatkezelő programmal végeztük el, szignifikancia számításától azonban – a kis esetszám miatt – eltekinttünk.

### 3.3 Diabetese betegek corneáinak vizsgálata

Vizsgálatainkba 15 diabetese beteget vontunk be, akiknek jobb szemét vizsgáltuk. A diabetes típusa 11 esetben NIDDM, 4 esetben IDDM volt. Átlagéletkoruk  $67\pm 8$  (56-79) év volt. A vizsgálati alkalmasság feltételeként lézerkezelést igénylő diabetese retinopathiat határoztunk meg. A diabetes fennállásának átlagos időtartama  $14,8\pm 6,3$  év volt. A vizsgálatból kizáró ok volt minden korábbi, vagy jelenleg is fennálló cornea betegség, kontaktlencse-viselés, a szemháj és könnyrendszer betegségei, korábbi szemműtét, korábbi lézerkezelés, glaukóma, uveitis, minden helyi kezelés, és szisztémás kötőszöveti betegségek. A viszonylag kis esetszám és a diabetes két típusában elvileg azonos komplex anyagcserezavar, valamint a diabetes stádiuma miatt a két diabetese csoportot egységese-nek tekintettük, és ezért a különböző paraméterek (életkor, retinopathia stádiuma stb.) közötti korrelációkat sem vizsgáltuk. A kontroll csoport katarakta műtét céljából klinikánkra kerülő olyan nem diabetese betegekből állt, akik a szürkehályogon kívül szemészetileg egészségesek voltak. 15 személy 15 szemét vizsgáltuk, átlagéletkoruk  $71\pm 7$  (61-78) év volt.

A statisztikai értékelés során a csoportok között összehasonlítottuk a basalis epithelsejtek, az elülső és hátsó stroma keratocytáinak sűrűségét, valamint az endothel sejtdenzitást és az endothel sejtek variációs koefficiensét (CV). A subepithelialis idegplexusnak csak alakai rendellenességeit vizsgáltuk, az idegfonat denzitását nem. A statisztikai vizsgálatokat Microsoft Excel 7.0 táblázatkezelő program segítségével végeztük el. A vizsgált paraméterek csoportok közötti eltéréseit 2-mintás t-próba segítségével számítottuk ki és akkor tekintettük szignifikánsnak, ha  $p < 0,05$  (95% CI) volt.

### 3.4 Hosszú távú kontaktlencse viselés corneális hatásainak vizsgálata

Vizsgálatainkhoz klinikánk kontaktlencse laboratóriumában rutin kontrollvizsgálatra jelentkező 10 kemény-kontaktlencse (PMMA) viselőt, (átlagéletkor  $32,5\pm 3,7$  év) és 10 lágy-kontaktlencse viselőt (átlagéletkor  $40,7\pm 11,4$  év) választottunk ki véletlenszerűen, akik a lencsét hosszú ideje tünet és panaszmentesen viselték és más szembetegségben sem szenvedtek. A páciensek jobb szemét vizsgáltuk. Kontrollként 10 szemészetileg egészséges személy szintén jobb szemét választottuk (átlagéletkor  $30,4\pm 1,6$  év). A vizsgálatokat a cornea centrumában végeztük. Értékeljük a cornea basalis epithel sejtsűrűségét, a subepithelialis idegplexust, az elülső és hátsó stroma keratocytáinak számát, vala-

mint az endothel sejtdenzitást, az átlagos sejtfelszínt és a sejtforma variációs koefficiensét. A basalis epithelsejtek és a keratocytákat manuálisan értékeltük. A konfokális mikroszkópia után, UH pachymeterrel határoztuk meg a cornea centrális vastagságát. A számításokat és a statisztikai értékelést SPSS 9.0 for Windows és Excel 7.0 programokkal végeztük. Mérési eredményeinket Student féle 2-mintás t-próbával hasonlítottuk össze. Ennek feltétele azonban, – az egyes változók azonos szórásnégyzete – nem teljesült minden esetben, ezért a statisztikai értékelést ún. nemparaméteres eljárással (Mann-Whitney U-próba) is kiegészítettük. Az eltéréseket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha  $p < 0,05$  (95% CI) volt.

### 3.5 Acanthamoeba keratitis

Vizsgálatainkat 6 beteg 6 szemén végeztük, akiknél a klinikai kép Acanthamoeba keratitist valószínűsített. Átlagéletkoruk  $27\pm 7$  (20-47) év volt. Az Acanthamoeba keratitis diagnosztizálásáig eltelt idő átlagosan  $5\pm 2$  (1-8) hét volt. 4/6 beteg volt kontaktlencse viselő. A lencseviselők minden esetben lágy kontaktlencsét hordtak, a hordás ideje 30 nap és 19 év között volt. Klinikánkra érkezéskor a legjobb szemüveggel korrigált látóélesség átlaga  $0,46\pm 0,44$  (0,01-1,0) volt. A konfokális corneamikroszkópos vizsgálatokhoz Tomey ConfoScan Model P4 típusú készüléket használtunk. A cornea hámkaparek citológiai vizsgálatára 4 esetben került sor, 2 esetben csak konfokális corneamikroszkópos vizsgálat történt. Acanthamoeba és bakteriológiai tenyésztés minden esetben történt a cornea felszínéről.

## 4 Eredmények

### 4.1 A CCM reprodukálhatóságának és megbízhatóságának vizsgálata

Azonos vizsgáló esetén (első csoport), a képek között az endothel denzitás átlagos különbsége automatikus értékelésnél  $31$  sejt/ $\text{mm}^2$  ( $p=0,59$ , Pearson  $0,89$ , Mk.  $0,945$ ), manuális értékelésnél  $9$  sejt/ $\text{mm}^2$  ( $p=0,89$ , Pearson  $0,88$  Mk.  $0,937$ ) volt. A kereten belül értékelt sejtszámok közötti átlagkülönbség automatikus értékelési módban a képek között  $1,8$  ( $p=0,24$ , Pearson  $0,61$ , Mk.  $0,7560$ ), manuális értékelésnél pedig  $0,1$  ( $p=0,95$ , Pearson  $0,84$ , Mk.  $0,914$ ) sejt volt. A sejtfelszín átlagkülönbsége  $3,9\mu\text{m}^2$  ( $p=0,51$ , Pearson  $0,91$ , Mk.  $0,9513$ ), a variációs koefficiens átlagos különbsége  $0,02$  ( $p=0,24$ , Pearson  $0,83$ , Mk.  $0,8526$ ) volt.

A két vizsgáló által (második csoport) értékelt azonos képek között az átlagos endothel denzitás különbség automatikus értékelésnél 33 sejt/mm<sup>2</sup> (p=0,57, Pearson 0,92, Mk. 0,958), manuális módban 158 sejt/mm<sup>2</sup> (p=0,0034, Pearson 0,96, Mk. 0,980) volt. A kereten belüli sejtek számában, automatikus módban a két vizsgáló között nem volt szignifikáns eltérés (az átlagos különbség 1,7 sejt, p=0,053, Pearson 0,93, Mk. 0,954), manuális értékelés esetén viszont szignifikáns eltérést észleltünk (az átlagos különbség 2,45 sejt, p=0,0028, Pearson 0,97, Mk. 0,985).

Ezt követően összevetettük az automatikus és manuális értékelési módszert. Csak az endothel denzitást és a sejszámokat tudtuk összehasonlítani. Az endothel sejsűrűsége az automatikus értékelésnél minden csoportban magasabb volt, mint manuálisan értékelve, a különbség szignifikáns volt (p<0,001). Az értékelt sejtek száma viszont fordítva viselkedett, minden esetben a manuális értékelés során több sejtet számoltunk meg, mint automatikus értékelés esetén a szoftver. A különbség itt is kifejezetten szignifikáns volt (p<0,001). Az automatikus és manuális értékelési módszer között lineáris regressziót észleltünk, melyet az  $A=479,4+0,874 \times M$  képlettel írtunk le (A automatikus, M manuális értékeket jelent).

## 4.2 Keratoplasztikák vizsgálata

Betegeink legjobb, szemüveggel korrigált posztoperatív látóélessége az első vizsgálat időpontjában átlagosan 0,53±0,32 (0,04-0,9), a második vizsgálatnál 0,42±0,34 (0,02-1,0) volt.

A cornea felszínes laphám sejtjei mindkét vizsgálat során alaki és nagyságbeli eltéréseket mutattak, és sejtmagjaikat megtartották. Az intermedier sejtek reflektivitása fokozott volt. A basalis epithelsejtek átlagos denzitása az első vizsgálatkor 3896±542 (2840-4220) sejt/mm<sup>2</sup> volt, a második vizsgálatkor azonban 3200±642 (2620-3970) sejt/mm<sup>2</sup> –re csökkent.

A Bowman membrán reflektivitása mindkét vizsgálat során minden betegben fokozott volt. Cornea idegeket az első vizsgálatkor 2/7 esetben (28,5%, műtét után 13 és 23 hónappal), a második vizsgálatkor pedig már minden esetben észleltünk. Az idegek lefutása irreguláris volt. A stromában mindkét vizsgálat során extracelluláris reflektivitás fokozódást észleltünk. Az első vizsgálat során minden esetben micro-dot depozitumok és vékony lineáris struktúrák együttes jelenlétét észleltünk a mély stroma rétegekben. A második vizsgálat sorozatban a lineáris struktúrák eltűntek. A stromában és a Descemet rétegben

vaskos redőket csak az első vizsgálat alkalmával észleltünk. Az elülső stromában a keratocyták átlagos sűrűsége 15, ill. 66 hónappal a műtét után 750±82 (640-820) sejt/mm<sup>2</sup> ill. 383±52 (264-522) sejt/mm<sup>2</sup>, a hátsó stromában pedig 604±78 (510-704) sejt/mm<sup>2</sup> ill. 411±98 (326-612) sejt/mm<sup>2</sup> volt. A preoperatív (donor) endothel sejsűrűsége átlaga 2811±117 (2640-3000) sejt/mm<sup>2</sup> volt a Cornea Bank adatai alapján. A posztoperatív endothel denzitás átlaga 1719±578 (1069-2716) sejt/mm<sup>2</sup> (15 hónap) illetve 965±271 (565-1346) sejt/mm<sup>2</sup> (66 hónap) volt. Az endothel sejt rétegben erősen fokozott polimegetizmust észleltünk, a variációs koefficiens átlaga 15 hónappal a műtét után 0,56±0,099 (0,41-0,66), 66 hónappal pedig 0,58±0,089 (0,42-0,66) volt. Minden esetben kifejezett pleomorfizmust is észleltünk mindkét vizsgálat során. Az első vizsgálatkor 1/7 esetben (14,3%), a második vizsgálatkor 3/7 esetben (42,8%) a transzplantátumban cornea guttata jellemző eltéréseket is észleltünk.

## 4.3 Diabetesez betegek corneáinak vizsgálata

A basalis epithelsejtek sűrűsége között szignifikáns különbség nem volt (kontroll 4025±384 sejt/mm<sup>2</sup> vs. diabetes 3850±462 sejt/mm<sup>2</sup> p>0,05). Sem az elülső stroma (kontroll 765±46 sejt/mm<sup>2</sup> vs. diabetes 750±74 sejt/mm<sup>2</sup>), sem a hátsó stroma (kontroll 604±52 sejt/mm<sup>2</sup> vs. diabetes 580±65 sejt/mm<sup>2</sup>) keratocyták sűrűségében szignifikáns eltérést nem találtunk. A kontroll csoportban az endothelsejtek magasabb sejsűrűségét észleltük (kontroll 2750±412 sejt/mm<sup>2</sup> vs. diabetes 2615±532 sejt/mm<sup>2</sup> p>0,05). Az endothel sejtek variációs koefficiensén (kontroll 0,35±0,06 vs. diabetes 0,46±0,09 p<0,05) az eltérés szignifikánsnak bizonyult. Szubjektíve egyértelműen fokozott pleomorfizmus is észlelhető volt. A diabetesez csoportban a 15 beteg között 4 esetben találtunk a Bowman rétegben kóros morfológiájú subepithelialis idegeket (26,6%). A kontroll csoportban hasonló eltéréseket egy esetben sem találtunk.

## 4.4 Hosszú távú kontaktlencse viselés corneális hatásainak vizsgálata

A legjobb korrigált látóélesség a kontroll csoportban 1,0±0,0, a PMMA csoportban 0,88±0,2, a lágylencsés csoportban 0,8±0,4 volt. A refrakció a kontroll csoport esetén +0,14±0,9D (-1,0 - +2,0), a lágylencsét viselők között -9,0±2,6D (-5,5 -11,0), a keménylencsét viselők között -3,3±7,5D (-11,0- +7,5) volt. A kontroll csoport és a kontaktlencse viselők átlagéletkora, valamint a kontaktlencse átlagos viselési idejében nem volt szignifikáns eltérés. A cornea centrumának vastagsága mind a lágylencse, mind a PMMA viselők

között a kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb volt ( $p_{K-lágy}=0,011$ ,  $p_{K-PMMA}=0,011$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,134$ ).

A basalis epithelsejtek sűrűsége a kontrollhoz képest mind a lágy, mind a PMMA csoportban csökkent volt ( $p_{K-lágy}=0,008$ ,  $p_{K-PMMA}=0,0001$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,828$ ). Hasonlóan viselkedett az elülső stroma keratocytá sűrűség is ( $p_{K-lágy}=0,0001$ ,  $p_{K-PMMA}=0,008$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,900$ ). A hátsó stromában is csökkent a keratocyták átlagos sűrűsége, a kontroll-lágy, illetve a lágy-PMMA csoport között az eltérés szignifikáns volt ( $p_{K-lágy}=0,003$ ,  $p_{K-PMMA}=0,251$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,016$ ). Az endothel átlagos denzitása és az átlagos sejtfelszín az egyes csoportok között szignifikáns eltérést nem mutatott ( $p_{K-lágy}=0,492$ ,  $p_{K-PMMA}=0,426$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,31$ ). Az endothel variációs koefficiense a kontrollhoz képest mindkét kontaktlencsés csoportban szignifikánsan magasabb volt ( $p_{K-lágy}=0,031$ ,  $p_{K-PMMA}=0,043$ ,  $p_{lággy-PMMA}=0,134$ ). A PMMA lencseviselők között 4/10, a lágy kontaktlencse-viselők között 2/10 esetben észleltünk kóros subepithelialis idegplexust. A keménylencsét viselő csoportban 6/10, a lágylencsét viselők között 4/10 esetben a cornea stromában micro-dot depozitumokat észleltünk.

#### 4.5 Acanthamoeba keratitis

Betegeink látóélességének átlaga felvételnélkor  $0,46 \pm 0,44$  (0,01-1,0), az utolsó kontrollvizsgálatkor  $0,66 \pm 0,41$  (0,15-1,0) volt. A konfokális corneamikroszkópos vizsgálat minden esetben pozitív volt. Enyhébb esetekben a hámban és subepithelialis, súlyosabb esetekben a stroma elülső részében is 10-25 $\mu$ m átmérőjű, ovoid, erősen reflektív képleteket észleltünk. Ezek a képletek gyakran csoportosan helyezkedtek el, közöttük fokozott extracelluláris reflektivitást észleltünk. A hám normális morfológiája alig volt felismerhető. A subepithelialis idegplexus nem ábrázolódott, a keratocyták száma csökkent. Előrehaladott esetekben a stromában „fészekszerű”, optikailag kevésbé reflektív üregekben csoportosan fordultak elő a ciszták. A digitális képek feldolgozása során a ciszták kettős szerkezete is észlelhető volt. A cisztákon kívül 6 esetünkben kettőben 25-30 $\mu$ m hosszú, 8-9 $\mu$ m széles, szabálytalan alakú trophozoitákat is megfigyeltünk. A cornea hámkaparék vizsgálata során 3/4 esetben sikerült kimutatni az Acanthamoeba cisztákat. Az Acanthamoeba és a bakteriológiai tenyésztés eredménye minden esetünkben negatív eredményű volt.

### 5 Következtetések

Hazánkban elsőként ismertettük az in vivo konfokális corneamikroszkópos vizsgálat módszerét, és írtuk le az ép corneák konfokális mikroszkópos jellemzőit.

Elsőként írtuk le a konfokális corneamikroszkópos vizsgálat reprodukálhatóságát és megbízhatóságát az endothel sejtrétegre vonatkoztatva. Vizsgálatainkkal sikerült bizonyítanunk, hogy az in vivo konfokális corneamikroszkópos vizsgálat során az endothel sejtréteg automatikus és manuális értékelése jól reprodukálható, megbízható eredményt ad. Az automatikus és manuális értékelés egymással szorosan korrelál, a kapott különbségek a mérési technika eltéréseiből fakadhatnak és klinikailag nem jelentősek. Különböző vizsgálok között a manuálisan értékelt felvételek összehasonlítása azonban csak kellő óvatossággal történhet.

Elsőként vizsgáltuk szövödménymentes keratoplasztikák után a transzplantátum minden rétegét konfokális corneamikroszkóppal, hosszú távú követési idő után. Megállapítottuk, hogy a cornea csaknem minden rétegében a sejtsűrűség folyamatosan csökken. Az endothel sejtek kivételével, a hámban illetve a stromában észlelt sejtsűrűség csökkenésnek a cornea működésére, mechanikai tulajdonságaira gyakorolt hatásait, klinikai jelentőségét azonban még nem ismerjük. Kimutattuk, hogy a cornea idegek regenerációja során azok morfológiai jellegzetességei megváltoznak. Elsőként írtuk le a stromában keratoplasztika után micro-dot depozitumok jelenlétét. Vizsgálatainkkal kimutattuk a transzplantátumokban manifesztálódó cornea guttatát is.

Igazoltuk és megerősítettük a diabeteses corneákban konfokális corneamikroszkóppal is leírt eltéréseket. A kontroll csoporthoz képest minden sejtrétegben alacsonyabb sejtsűrűséget észleltünk, azonban az eltérés – az endothel sejtforma variációs koefficiensén kívül – egy esetben sem volt szignifikáns. Diabetesesek között 26,6%-ban észleltünk kóros subepithelialis idegeket. Véleményünk szerint a sejtrétegek eltérései és a subepithelialis idegek károsodása együttesen vezethetnek a diabeteses keratopathia kialakulásához és magyarázhatják a diabeteses betegekben az epithel gyakori ártalmát.

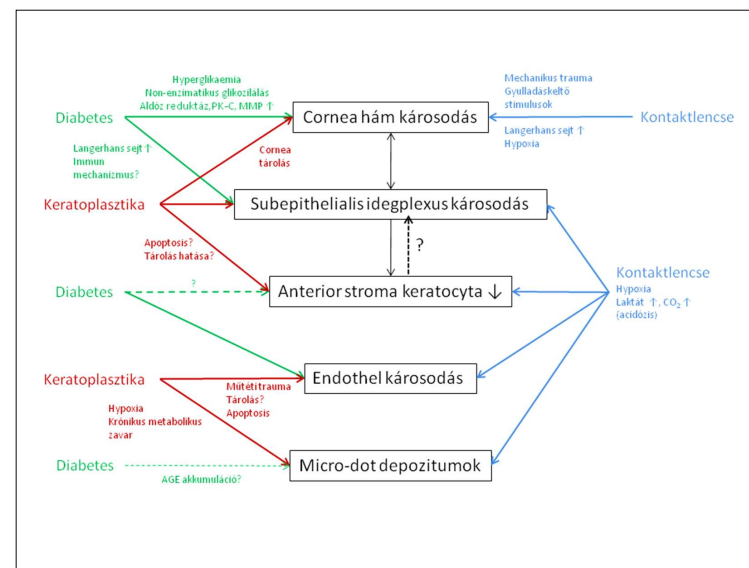
Saját vizsgálataink is alátámasztják a hosszú távú kontaktlencse viselés kapcsán konfokális corneamikroszkóppal korábban publikált elváltozásokat. Az endothel sejtsűrűség kivételével a cornea minden rétegében a sejtdenzitás csökkenését tapasztaltuk, függetlenül a kontaktlencse típusától, valamint az endothel sejtréteg fokozott polimegetizmusát, kóros lefutású subepithelialis idegplexust és micro dot depozitumokat is észleltünk. A

kemény és lágylencse viselők között szignifikáns különbség csak a hátsó stroma keratocytá sűrűségében mutatkozott.

Hazánkban elsőként írtuk le az Acanthamoeba keratitis konfokális corneamikroszkópos jellegzetességeit, mutattuk ki a cisztákat és trophozoitákat, megteremtve a betegség korai, in vivo diagnózisának lehetőségét.

A keratoplasztika, a diabetes, és a hosszú távú kontaktlencse viselés konfokális mikroszkópos eltérésekhez vezető feltételezett és részben bizonyított mechanizmusát az 1. ábrán foglaltuk össze.

Bár a három csoport klinikailag egymástól jelentősen különbözik, az általunk észlelt in vivo mikroszkópos eltérések hasonló patomechanizmust sejtetnek. Mindhárom csoportban ugyanis hosszú távon a cornea anyagcseréjének akut és krónikus zavaráról van szó. A cornea epithel, a subepithelialis idegplexus és az elülső stroma keratocytái funkcionális egységet képeznek, így az egyes rétegekben kialakuló károsodások más sejtrétegek további eltéréseit okozhatják. Véleményünk szerint ezért ebben a három csoportban észlelt azonos jellegű eltérések a cornea metabolizmusában bekövetkező zavarok általános in vivo mikroszkópos morfológiai jeleinek tekinthetők.



1. ábra A diabetes, a keratoplasztika és a kontaktlencse viselés hatásai a cornea egyes sejtrétegeire

## 6 Saját publikációk jegyzéke

### 6.1 Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények:

1. Füst Á, Lendvai Z, **Imre L**, Siló P. (2012) A kötőhártya in vivo konfokális corneamikroszkópiája okuláris pemphigoidban. Szemészet, 149: 166-169.
2. Resch MD, **Imre L**, Tapasztó B, Németh J. (2008) Confocal microscopic evidence of increased Langerhans cell activity after corneal metal foreign body removal. Eur J Ophthalmol, 18: 703-707. **IF: 1,010**
3. **Imre L**, Resch M, Megyesi M, Németh J. (2007) In vitro microstructural analysis of commercial ophthalmic suspensions by HRT II Rostock Cornea Module (In-vitro-untersuchung der mikrostruktur von handelsüblichen ophthalmologischen suspensionen mittels HRT-II Rostock Cornea Modul). Ophthalmologe, 104: 697-704. **IF: 0,791**
4. **Imre L**, Resch M, Nagymihály A. (2005) In vivo confocal corneal microscopy after keratoplasty (Konfokale in-vivo-hornhautmikroskopie nach keratoplastik). Ophthalmologe, 102: 140-147. **IF: 1,559**
5. **Imre L**, Tóth J, Megyesi M, Lukáts O, Resch M. (2004) Az Acanthamoeba-keratitis in vivo diagnosztikája konfokális korneamikroszkóppal. Szemészet, 141: 359-363.
6. **Imre L**, Görög K. (2004) Tartós kontaktlencse-viselés corneális hatásainak vizsgálata in vivo konfokális mikroszkóppal. Szemészet, 141: 459-463.
7. **Imre L**, Kerényi Á, Nagymihály A. (2003) In vivo konfokális corneamikroszkópia szövődménymentes keratoplastikák után. Szemészet, 140: 211-216.
8. **Imre L**, Papp A, Nagymihály A. (2003) Diabetese betegek corneájának in vivo konfokális corneamikroszkópos vizsgálata. Szemészet, 140: 251-254.
9. Görög K, **Imre L**. (2000) Terápiás kontaktlencse alkalmazásával szerzett tapasztalataink. Szemészet, 137: 23-27.
10. **Imre L**, Nagymihály A. (2001) Reliability and reproducibility of corneal endothelial image analysis by in vivo confocal microscopy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 239: 356-360. **IF: 1,192**
11. Kerényi Á, **Imre L**, Süveges I. (2000) A hátsó polimorf dystrophia konfokális szaruhártya-mikroszkópos jellemzői. Szemészet, 137: 151-155.
12. **Imre L**. (1999) Első hazai tapasztalatok konfokális corneamikroszkópiával. Szemészet, 136: 97-102.

### 6.2 Egyéb közlemények

1. Maka E, **Imre L**, Somogyvári Z, Németh J. (2015) Koraszülöttek ideghártya-elváltozása miatti lézerkezelés neonatális intenzív centrumokban. Csecsemő-Szem-Mentő Program Orvosi Hetilap, 156: 192-196.
2. Füst T, Csuka D, **Imre L**, Bausz M, Nagymihály A, Füst G, Csorvási T, Németh J, Varga L. (2014) The role of complement activation in the pathogenesis of Fuchs' dystrophy. Mol Immunol, 58: 177-181. **IF: 2,973**
3. Füst Á, Süveges I, Tóth J, **Imre L**, Nagy ZZ. (2014) Súlyos bakteriális keratitis gyógyítása cross-linking kezeléssel - Esetismertetés. Szemészet, 151: 33-36.
4. Füst A, Csuka D, Süveges I, **Imre L**, Bausz M, Nagymihály A, Csorvási A, Füst G, Németh J. (2013) Complement activation in the aqueous humor of pseudophakic bullous keratopathy patients. Ophthalmic Res, 49: 161-166. **IF: 1,376**
5. Süveges I, Füst A, **Imre L**. (2013) Herpes simplex keratitisekben végzett perforáló keratoplasztika posztoperatív terápiája. Orvosi Hetilap, 154: 2065-2070.
6. Füst A, Pállinger E, Stündl A, Kovács E, **Imre L**, Tóth S, Németh J. (2012) Both freshly prepared and frozen-stored amniotic membrane cells express the complement inhibitor CD59. ScientificWorldJournal, 2012: 815615. **IF: 1,730**
7. **Imre L**. (2012) Bakteriális keratitis. Szemészet, 149: 88-101.
8. **Imre L**. (2012) Első tapasztalataink a módosított Konstantinov-keratoprotézis implantációjával. Szemészet, 149: 188-193.
9. Resch MD, Resch BE, Csizmazia E, **Imre L**, Németh J, Szabó-Révész P, Csányi E. (2011) Drug reservoir function of human amniotic membrane. J Ocul Pharmacol Ther, 27: 323-326. **IF: 1,509**
10. Resch M, Csizmazia E, Resch BE, **Imre L**, Szabó-Révész P, Németh J, Csányi E. (2011) Az amnionmembrán kettős farmakokinetikai hatásának in vitro vizsgálata. Szemészet, 148: 95-100.
11. Resch MD, Resch BE, Csizmazia E, **Imre L**, Németh J, Révész P, Csányi E. (2010) Permeability of human amniotic membrane to ofloxacin in vitro. Invest Ophthalmol Vis Sci, 51: 1024-1027. **IF: 3,466**
12. **Imre L**, Füst Á. (2009) Esztétikai céllal viselt kontaktlencse súlyos szövődménye. LAM, 19: 523.



13. Resch M, Korányi G, Füst Á, Szentmáry N, **Imre L**, Bausz M. (2007) Pterygium-műtét conjunctiva-limbus autograft fibrinragasztós rögzítésével (cut and paste technika). Szemészet, 144: 115-118.
14. Papp A, **Imre L**, Süveges I. (2004) Rövid távú elektrofiziológiai változások pan-retinalis argonlézer-kezelés hatására nyulak retinájában. Szemészet, 141: 455-460.
15. **Imre L**, Papp A, Süveges I. (2003) Elektrofiziológiai vizsgálatok retinopathia diabetica lézerkezelése kapcsán. Szemészet, 140: 245-249.
16. Füst Á, **Imre L**, Nagy ZZ, Süveges I. (2001) Groenouw I cornea-dystrophia excimer lézerkezelése. Szemészet, 138: 149-153.
17. Abdel-Salam GMH, Czeizel AE, Vogt G, **Imre L**. (2000) Microcephaly with chorioretinal dysplasia: Characteristic facial features. Am J Med Gen, 95: 513-515.  
**IF: 2,749**
18. Toth J, Bausz M, **Imre L**. (1996) Unilateral Malassezia furfur blepharitis after perforating keratoplasty. Br J Ophthalmol, 80: 488. **IF: 1,328**
19. Kerényi Á, **Imre L**, Süveges I. (1995) Betaloc a chorioretinopathia centralis serosa kezelésében. Szemészet, 132: 225-228.
20. Kerényi Á, Süveges I, **Imre L**. (1994) Keratoplastika aphakiás és pseudophakiás bullosus keratopathia eseteiben. Szemészet, 131: 129-134.