

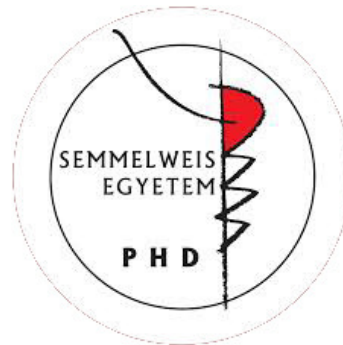
**A száraz szem és a corneális Langerhans-sejtek in vivo konfokális  
mikroszkópos vizsgálata gyulladásoos reumatológiai kórképekben és  
glaukómában**

Doktori értekezés

**Dr. Marsovszky László**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulensek:

Dr. Resch Miklós egyetemi adjunktus, PhD

Dr. Balog Attila egyetemi adjunktus, PhD

Hivatalos bírálók:

Dr. Sohár Nicolette egyetemi adjunktus, PhD

Dr. Constantin Tamás, egyetemi adjunktus, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Fidy Judit egyetemi tanár, MTA doktor

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Herényi Levente egyetemi docens, PhD

Dr. Skribek Ákos egyetemi adjunktus, PhD

Budapest

2015

## Tartalomjegyzék

<b>1. Rövidítések jegyzéke</b> .....	5
<b>2. Bevezetés</b> .....	8
2.1. A praecorneális könnyfilm és a szaruhártya felépítése .....	9
2.1.1. A könnyfilm.....	9
2.1.2. A szaruhártya felépítése.....	10
2.2. Az in vivo konfokális corneamikroszkóp.....	14
2.2.1. A konfokális corneamikroszkópia története, fejlődése, típusai.....	16
2.3. A szemfelszín immunitása.....	18
2.3.1. A szaruhártya immunitása .....	19
2.3.2. Antigén prezentáló sejtek .....	20
2.3.3. A Langerhans-sejtek (LS) szerkezete és funkciói .....	21
2.4. A száraz szem betegség .....	22
2.4.1. A száraz szem definíciója.....	22
2.4.2. A száraz szem betegség felosztása .....	22
2.4.3. A száraz szem diagnosztikája és kezelése .....	23
2.4.4. A száraz szem betegség immunpatológiai háttere.....	26
2.5. Gyulladásos reumatológiai kórképek .....	27
2.5.1. Rheumatoid arthritis (RA).....	28
2.5.2. Spondylitis ankylopoetica (Ankylosing Spondylitis, AS).....	28
2.5.3. Szisztémás lupus erythematosus (SLE).....	29
2.5.4. Gyulladásos reumatológiai kórképek kezelése a legújabb terápiás lehetőségek tükrében. ....	30
2.6. A glaukóma. A betegség előfordulási gyakorisága és klinikai jelentősége.....	31
2.6.1. A glaukóma kezelése és a szemfelszín .....	32
<b>3. Célkitűzések</b> .....	33
3.1. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek rheumatoid arthritisben.....	33
3.2. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek spondylitis ankylopoeticában.....	34
3.3. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek szisztémás lupus erythematosusban...	34
3.4. A tartósítószer szerepe a corneára a glaukóma travoprost kezelésében .....	35

<b>4. Módszerek</b> .....	36
4.1 Etikai engedély .....	36
4.2. Vizsgálatba bevont betegek és kontroll személyek .....	36
4.2.1. Rheumatoid arthritis .....	38
4.2.2. Spondylitis ankylopoetica .....	40
4.2.3. Szisztémás lupus erythematosus.....	41
4.2.4. A tartósítószer szerepe a corneára a glaukóma travoprost kezelésében .....	43
4.3. Vizsgálati módszerek.....	43
4.3.1. A száraz szem vizsgálata .....	43
4.3.2. Konfokális corneamikroszkópia.....	46
4.4. Statisztikai módszerek .....	50
<b>5. Eredmények</b> .....	51
5.1. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek vizsgálata rheumatoid arthritisben.....	51
5.1.1. Száraz szem paraméterek.....	51
5.1.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata .....	53
5.2. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek spondylitis ankylopoeticában.....	57
5.2.1. Száraz szem paraméterek.....	57
5.2.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópiás vizsgálata. ....	59
5.3. A szemszárazság és Langerhans-sejtek szisztémás lupus erythematosusban ....	62
5.3.1. Száraz szem paraméterek.....	62
5.3.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópiás vizsgálata .....	64
5.4. A tartósítószer hatása a corneára a glaukóma travoprost kezelésében .....	67
5.4.1. Száraz szem paraméterek.....	67
5.4.2. Konfokális mikroszkópiás vizsgálatok.....	68
<b>6. Megbeszélés</b> .....	71
6.1. Rheumatoid Arthritis .....	72
6.2. Spondylitis Ankylopoetica .....	75
6.3. Szisztémás Lupus Erythematosus.....	77
6.4. A glaukóma-ellenes szemcseppek és a szemfelszín.....	80
<b>7. Következtetések</b> .....	84
<b>8. Összefoglalás</b> .....	86
<b>9. Summary</b> .....	87

<b>10. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>88</b>
<b>11. Saját publikációk jegyzéke .....</b>	<b>108</b>
11.1. A disszertáció témájával kapcsolatos közlemények.....	108
11.2. A disszertáció témájával kapcsolatos idézhető előadáskivonatok.....	108
11.3. A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények .....	109
11.4. A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó idézhető előadás-kivonatok	110
<b>12. Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>111</b>

## 1. Rövidítések jegyzéke

ACAID: Anterior Chamber Associated Immune Deviation, (Elülső csarnokhoz kapcsolt immundeviáció)

ACPA: Anti-citrullinated protein antibody, (Citrullinált fehérje elleni antitest)

ACR: American College of Rheumatology, (Amerikai Reumatológiai Kollégium)

Anti-DNS: Anti-dezoxiribonukleinsav

Anti-Ro/SSA: Anti-nukleáris SSA (Sjögren-szindróma) autoantitestek

Anti-La/SSB: Autoantitestek SSB (Sjögren-szindróma)

APS: Antigén prezentáló sejtek

AS: Ankylosing spondylitis, (Spondylitis ankylopoetica)

BAK: Benzalkónium-klorid

BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, (Bath spondylitis ankylopoetica betegség aktivitási index)

CALT: Conjunctiva associated lymphoid tissue, (Kötőhártyával kapcsolt limfoid szövet)

CD: Cluster of Differentiation, (Differenciálódási marker)

CRP: C-reactive protein, (C-reaktív protein)

DAS-28: Disease Activity Score in 28 Joints, (Betegség aktivitási index 28 ízületben)

DS: Dendritikus sejtek

DMARD: Disease-Modifying Antirheumatic Drug, (Betegség-módosító antireumás gyógyszer)

EALT: Eye Associated Lymphoid Tissue, (Szemhez kapcsolt limfoid szövet)

ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate, (Vérsüllyedés)

EULAR: European League Against Rheumatism, (Európai Reumaellenes Liga)

GAG: Glycosaminoglycan, (Glikozaminoglikán)

HEV: High Endothelial Venules (Magas endothelú venulák)

HLA: Human Leucocyte Antigen, (Humán leukocita antigén)

HRT: Heidelberg Retina Tomograph

HRT-RCM: Heidelberg Retina Tomograph-Rostock Cornea Module

IL: Interleukin

LDALT: Lacrimal drainage associated lymphoid tissue (Könnyelvezető rendszerrel kapcsolt limfoid szövet)

LFU: Lacrimal Functional Unit, (Szemfelszíni funkcionális egység)  
LI: Lansbury-index  
LS: Langerhans-sejt  
LSM: Langerhans-sejt morfológia  
LTB4: Leukotriene B4  
MALT: Mucosal Associated Lymphoid Tissue, (Nyálkahártyával kapcsolt limfoid szövet)  
MGD: Meibomian Gland Dysfunction, (Meibom-mirigy diszfunkció)  
MHC: Major Histocompatibility Complex, (Fő hisztokompatibilitási egység)  
MMP: Matrix Metalloprotease, (Matrix-metalloproteáz)  
MTX: Methotrexát  
NSS: Non Sjögren's Syndrome, (Nem-Sjögrenszindróma)  
OCT: Optical Coherence Tomograph, (Optikai koherencia tomográfia)  
ORFI: Országos Reumatológiai és Fizioterápiás Intézet  
OSDI: Ocular Surface Disease Index, (Szemfelszíni betegség index)  
PQ: Poliquaternium  
RA: Rheumatoid Arthritis  
RCM: Rostock Cornea Module  
RF: Rheumatoid Factor, (Rheumatoid faktor)  
SD: Standard Deviation, (Standard deviáció)  
SLE: Systemic Lupus Erythematosus, (Szisztémás lupus erythematosus)  
SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, (Szisztémás lupus erythematosus betegség aktivitási index)  
SSCM: Scanning-Slit Confocal Microscopy, (Résfénnyel pásztázó konfokális mikroszkópia)  
SS: Sjögren's syndrome, (Sjögren-szindróma)  
TBUT: Tear Break Up Time, (Könnyfilm felszakadási idő)  
TGF- $\beta$ : Tissue Growth Factor-  $\beta$ , (Szöveti növekedési faktor-  $\beta$ )  
TNF- $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , (Tumor Nekrózis Faktor  $\alpha$ )  
TravBAK: Benzalkónium-kloriddal tartósított travoprost  
TravPQ: Poliquaternium-1 vegyülettel tartósított travoprost

TSCM: Tandem Scanning Confocal Microscopy, (Tandem pásztázó konfokális mikroszkópia)

UV: Ultraviolet, (Ultraibolya)

VEGFR: Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor, (Szolubilis vaszkuláris endotheliális növekedési faktor receptor)

VIP: Vasoactive Intestinal Peptide, (Vazoaktív intesztinális peptid)

## 2. Bevezetés

A könnyfilm, a könnymirigy, a kötőhártya és a corneális epithelium, a Meibom-mirigyek és a hozzájuk kapcsolódó idegek együttesen képezik az ún. szemfelszíni funkcionális egységet (Lacrimal Functional Unit, LFU) (1,2). E szerkezeti egység integritása kiemelkedően fontos az optimális optikai funkciók betöltéséhez, valamint a szemfelszín egészséges működésének megőrzéséhez.

Az egészséges szaruhártya mentes mind nyirok-, mind pedig vérerektől, T- és B-limfocitákat gyulladásmentes állapotban nem tartalmaz, azonban számos antigén prezentációra képes sejt (APS) rezervoárjának tekinthető (2). Ezek a sejtek endogén és exogén ingerekre reagálva a veleszületett és adaptív immunitás összekapcsolásán keresztül különböző szemfelszíni immunológiai folyamatokban vesznek részt (3, 4).

A szisztémás autoimmun reumatológiai kórképekben fokozott proinflammatorikus citokin produkció figyelhető meg, mely szervspecifikus és általános gyulladás képében különböző szervek funkciókárosodását okozza (5). Az általános gyulladással kórképek mellett a zöldhályog betegségben használt antiglaukómás cseppkezelés szintén a szemfelszín homeosztatisz funkcióit károsíthatja. Jól dokumentált az irodalomban, hogy ezekben a kórképekben a száraz szem előfordulása is gyakoribb, azonban a pontos patofiziológiai mechanizmus még nem kellően feltárt (6-8).

Nyitott kérdés, hogy a szisztémás gyulladás hogyan befolyásolja a szemfelszín homeosztatisz funkcióit, illetve hogy a cseppkezeléssel kapcsolatos szemfelszíni stresszhatás milyen lokális immunfolyamatokat indukál és tarthat fenn egy olyan immunprivilegizált szövetben, mint a cornea. Kutatásaink során különböző autoimmun kórképekben mértük fel a száraz szem betegséget, és a cornea ultrastruktúrájának in vivo vizsgálatát konfokális corneamikroszkóppal végeztük.

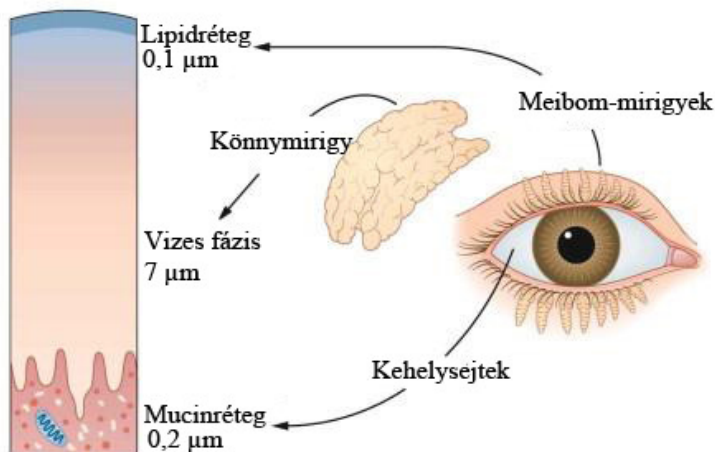
Habár funkcionális értelemben a szemfelszín egy szerkezeti egységet képvisel, mégis alkotóelemei anatómia felépítésükben és elsődleges funkcióikban is különböznek, melyek közül az értekezésben releváns könnyfilm és a szaruhártya felépítését részleteiben is ismertetem.



## 2.1. A praecorneális könnyfilm és a szaruhártya felépítése

### 2.1.1. A könnyfilm

A cornea integritásának, biológiai és élettani funkcióinak fenntartásában a megfelelő mennyiségű és minőségű könnyfilmréteg elengedhetetlen. A könny funkcióját tekintve nemcsak egyenletes optikai felszínt biztosít, hanem hidrálja és táplálja a felszínt borító hámsejteket, valamint számos, a cornea homeosztatis funkcióinak fenntartásában fontos molekula található meg benne (9,10). A könnyfilmréteg vastagsága a pislogás után közvetlenül a legvastagabb, majd a következő pislogásig eltelt időben vastagsága fokozatosan csökken (11,12). Korábban a könnyfilmet három különböző struktúrájú rétegre különítették el, azonban ma már tudjuk, hogy az egyes rétegek a pislogások során nem statikus, hanem sokkal inkább egyfajta dinamikusan változó réteget alkotnak.



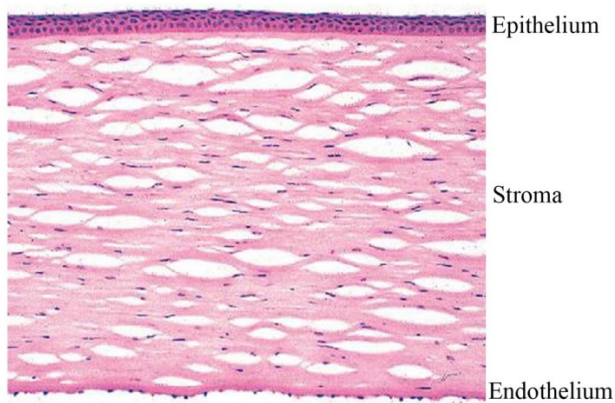
#### 1. ábra A könnyfilm szerkezete (13)

Klasszikus értelemben azonban értekezhetünk külső, főként lipid természetű anyagokból felépült rétegről (0,1  $\mu\text{m}$ ), melynek legfőbb feladata a könny párolgásának csökkentése. A lipidréteget a Meibom-mirigyek termelik, ezért a szemhéjat, illetve a szemhéjszélt károsító folyamatok másodlagosan szemfelszíni betegséget eredményeznek. A lipidfilm alatt kb. 6,5-7,0  $\mu\text{m}$  vastagságú réteg adja a könny vizes fázisát, melyben az ásványi sók mellett fehérje természetű anyagok, mint pl. immunglobulinok, albumin, komplement faktorok, valamint limfociták, polimorfonukleáris leukociták, illetve levált hámsejtek is kimutathatóak (14,15). Az immunsejtek jelenléte miatt ez a réteg a környezetünkből érkező patogének eliminálása szempontjából is kiemelkedően fontos szerepet tölt be.

A legbelső, úgynevezett mucinréteg egy a kötőhártya kehelysejtjei által termelt kb. 0,2-0,5  $\mu\text{m}$  vastagságú réteg, mely a könny egyenletes elterülését, a pislogás során fellépő súrlódási ellenállást csökkenti (16) (1. ábra).

### 2.1.2. A szaruhártya felépítése

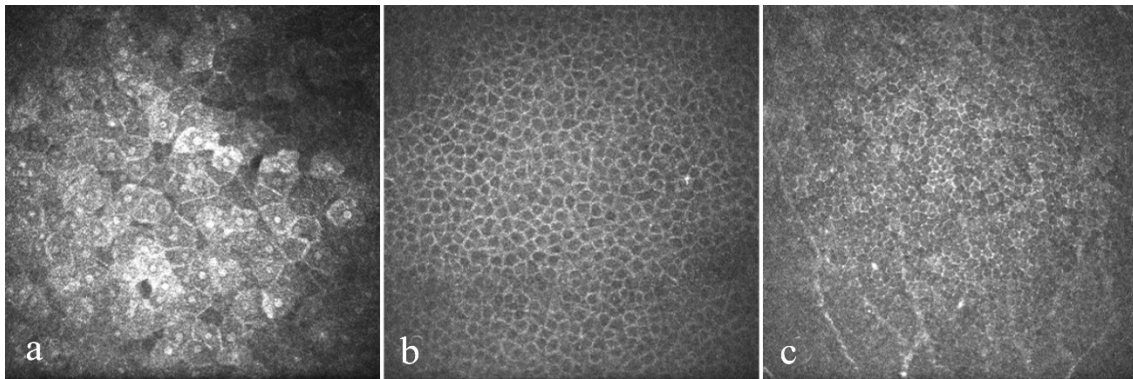
A szaruhártya a szemgolyó rostos burkának része, melynek legfontosabb tulajdonsága a fényáteresztő képessége, mely a kollagénrostok szabályos elrendezést mutató szerkezetével és a cornea közel állandó hidráltságával magyarázható. A cornea függőleges átmérője kb. 10,6 mm, míg vízszintes átmérője kb. 11,7 mm, és a kb. 11,5 mm-es rádiuszú scleralis gömbfelszínnel egy kitüntetett körvonalban, a limbusban található. Vastagsága centrálisan kb. 520  $\mu\text{m}$ , amely a limbus felé egyre növekszik, és a perifériás területen kb. 670-680  $\mu\text{m}$ -t ér el (11). A cornea száraz tömegének mintegy 80%-át a kollagénrostok, 15%-át az alapállomány adják, és csak 5%-át teszik ki a sejt elemek. Élettani körülmények között a cornea víztartalma kb. 70% (11). A szaruhártya transzparenciájának fenntartásához a felszín borító hámsejtek szabályossága, megfelelő mennyiségű és minőségű könnyfilm, a vér- és nyirokerek hiánya, a stroma celluláris és acelluláris elemeinek rendezettsége szükséges (2. ábra).



2. ábra A cornea szövettani képe (17)

*Epithelium.* A szaruhártya hámja 50-60  $\mu\text{m}$  vastagságú, 5-6 sejtrétegből álló, sejtmaggal bíró, el nem szarusodó laphám, melyet morfológiailag három különböző rétegre lehet felosztani (2. ábra). Általánosságban elmondható, hogy a sejtek a felszín felé fokozatosan laposodnak, és a citoplazma és a sejtmag aránya a szárnyas sejtek rétegétől csökken. A felszínes hámsejtek 50  $\mu\text{m}$  átmérőjűek és kb. 5  $\mu\text{m}$  vastagságúak, világos sejtmaggal és citoplazmával láthatóak a konfokális mikroszkópiás képen (3/a ábra).

A sejtsűrűség nagy variabilitást mutathat ( $759\pm 162$ , ill.  $1213\pm 370$  sejt/ $\text{mm}^2$ ) (18,19). A sejtek ún. gap junctionnel kapcsolódnak egymáshoz. A corneális epithelium elülső felszínén számos mikrovillus, illetve mikroplika található, amelyeket glikokalix segít a precorneális könnyfilmréteg stabilizálásában. A felszínes sejtek alatt kb.  $20\ \mu\text{m}$  átmérőjű és  $10\ \mu\text{m}$  vastagságú ún. szárnyas sejtek helyezkednek el. A szárnyas sejtek között kiterjedt interdigitáció és dezmoszomális kapcsolatrendszer mutatható ki (11). A sejtsűrűség a szaruhártya centrumában kb.  $5000$  sejt/ $\text{mm}^2$ , míg a periférián kb.  $5500$  sejt/ $\text{mm}^2$  (20,21). A konfokális képen a szárnyas sejtek világos sejthatárokkal bírnak hyporeflektív citoplazmával, és a sejtmagjuk kevésbé vizualizálható (20) (3/b ábra).



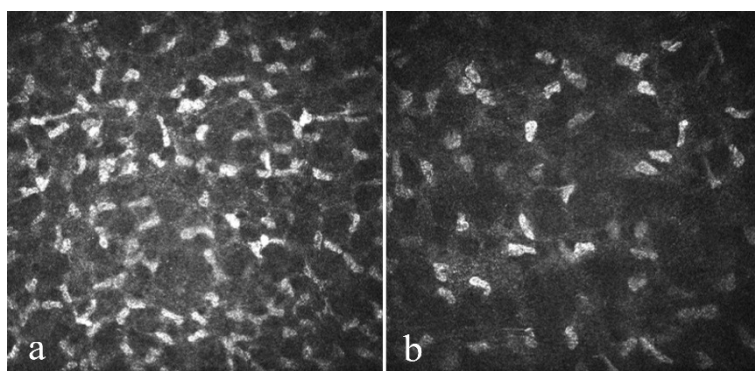
**3. ábra A corneális hámsejtek konfokális mikroszkópiás képe** A felszínes sejtek (a) laposak, sejtmagjuk jól látható, a szárnyas sejtek (b) kisebbek, sötét citoplazmával ábrázolódnak, míg a legkisebb sejtmérettel és szabályosabb, hengerszerű formával a bazális hámsejtek (c) rendelkeznek (*saját anyag*).

A legmélyebben fekvő, ún. bazális sejtek kb.  $8-10\ \mu\text{m}$  átmérőjű hengerszerű sejtek, ovális alakú sejtmaggal, amelynek lefutása merőleges a cornea felszínéhez viszonyítva. Ezek a sejtek kifejezettebb mitotikus aktivitással rendelkeznek, az utódsejtek felfelé vándorolnak, és szárnyas sejtekké alakulnak. A sejtsűrűség kb.  $6-9000$  sejt/ $\text{mm}^2$  a cornea centrális területén, míg a periférián kb.  $10000$  sejt/ $\text{mm}^2$  (3/c ábra) (18,19,21,22). A bazális sejtek egy kb.  $70-80\ \text{nm}$  vastagságú, fénymikroszkóposan szerkezet nélküli ún. bazálmembrán rétegen nyugszanak, melyet horgonyzó rostok komplex hálózata rögzít a Bowman-membránhoz (11).

*Bowman-membrán.* Az epithelium a bazálmembránon keresztül az ún. membrana limitans anteriorhoz (Bowman-membrán) kapcsolódik, mely egy kb.  $8-12\ \mu\text{m}$

vastagságú, random módon rendeződött rostrendszerből áll (11). Konfokális mikroszkópos képen egynemű, amorf lemezként ábrázolódhat, azonban általában nehezen alkotható kép erről a rétegről (20). Élettani funkcióját tekintve fontos kiemelni, hogy a betörő kórokozókkal szemben barriert képez, és védi a mélyebb rétegeket, sérülése után azonban a szaruhártya hegesedése következik be. Kiemelt fontossága van az epithelium migrációjának irányításában, valamint védi a stromát az epithelium által termelt citokinektől, és kiemelt szerepe van az ultraibolya (UV-B és UV-C) sugarak szűrésében is (11,23).

*Stroma.* A Bowman-membrán alatt fekszik a cornea vastagságának kb. 90%-át képező rétege, a substantia propria, vagy más néven a corneális stroma. A stromalis kollagén rendszerek szabályos elrendeződése biztosítja a cornea transzparenciáját. A legfontosabb stromalis glikozaminoglikán (GAG) a keratán-szulfát, valamint a kondroitin-szulfát (11,24). A sejtes állomány jelentős részét a módosult fibroblasztok, a keratociták alkotják. Konfokális mikroszkóppal vizsgálva a stromán hyperreflektív ovális struktúrák láthatók, amelyek a keratociták sejtmagjainak felelnek meg (22). A citoplazma és a keratociták által termelt kollagénrostok a konfokális corneamikroszkóppal nem láthatóak. A keratocita-sűrűség az elülső stromában a legkifejezettebb, míg a mélyebb rétegek felé haladva a sejtek száma fokozatosan csökken (4. ábra).



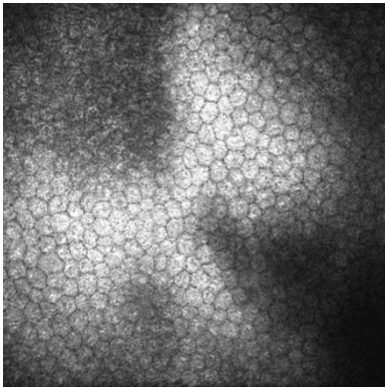
**4. ábra** Az elülső (a) és a hátsó stroma (b) konfokális mikroszkópiás képe. A keratociták sejtmagjai hyperreflektív területként ábrázolódnak. A sejtsűrűség a mélyebb rétegek felé csökken (*saját anyag*).

Mustonen és mtsai az elülső stroma keratocita-sűrűségét  $1058 \pm 217$  sejt/mm<sup>2</sup>-nek mérték, míg a hátsó stroma esetében  $771 \pm 135$  sejt/mm<sup>2</sup> sűrűséget találtak (18). Más szerzők, mint Popper és mtsai (19) a legmagasabb keratocita sűrűséget szintén az elülső

stromarétegben mérték, de a legalacsonyabbat nem a stroma hátsó, hanem középső részén. Patel és mtsai vizsgálata szerint a centrális keratociták sűrűsége a korrallal évente 0,45%-kal csökken (25).

*Descemet-membrán.* A corneális stroma és az endothelium között egy kb. 8-12  $\mu\text{m}$  vastagságú, konfokális mikroszkóppal amorf lemezként látható réteg helyezkedik el, melyet membrana limitans posteriorinak, vagy Descemet-membránnak nevezünk. Két részből tevődik össze: az elülső egyharmadát egy csíkolatot mutató kompakt lamelláris rendszer, a hátsó kétharmadát pedig csíkolatot nem mutató homogén szerkezetű, főként I. típusú kollagénrostokat tartalmazó rész foglalja el. A Descemet-membrán az alatta fekvő endothelium bazálmembránja (26).

*Endothelium.* A corneális endothelium egy speciális egyrétegű laphám, mely hatszög alakú sejtekből áll. Fő feladata a szaruhártya víztartalmának szabályozása (27). Az endothel sejtek kb. 5  $\mu\text{m}$  magasak és átmérőjük 18-20  $\mu\text{m}$ . A sejtek egymással zonula occludenssekkkel, macula adherenssekkkel és dezmoszómmákkal kapcsolódnak (11). Konfokális mikroszkóppal a sejtmagok nem láthatóak, a sejthatárok kevésbé reflektívek, míg a citoplazma fokozottabb reflexiója miatt világosabb (5. ábra).

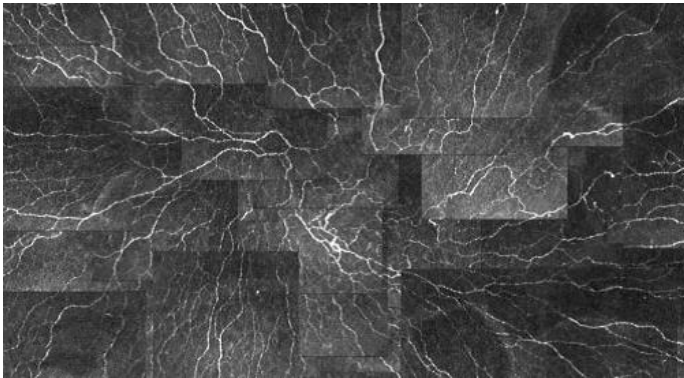


**5. ábra Corneális endothelium sejtek**A képen jól látható a jellegzetes hatszög alakzat, a hypodenz sejthatárok és a világosabb citoplazma (*saját anyag*).

A citoplazma fokozott reflektivitását a fejlett mitokondrium, a Golgi-apparátus és egyéb sejtalkotók jelenléte okozza, mely az endothelium aktív anyagcsere-folyamatokban betöltött szerepét hangsúlyozza(28). Életünk során az endothelium sejtek száma fokozatosan csökken, és a fiatal életkorban mért sejtszám negyvenéves kor körül már

csak 2500/mm<sup>2</sup>, majd idősebb korban kb. 2000/mm<sup>2</sup>-re csökken. Bourne és mtsai vizsgálatukban évente 0,6%-os sejtsűrűség-csökkenést találtak (29).

*Corneális idegek.* A szaruhártya szervezetünk legsűrűbben beidegzett szövete. Az idegellátást a nervus ophthalmicus utolsó ágai, a nervus ciliarisok szolgáltatják, melyek myelinhüvely nélküli idegek. Vastagságuk kb. 20 µm körüli, míg számuk kb. 60-80 között változik. A corneát az elülső-középső stroma magasságában a limbus felől érik el, majd a felszínnel kezdetben párhuzamosan futnak. Rövid szakasz után azonban az idegek a felszín irányába fordulnak, és átfúrnak a Bowman-membránt (30). A stroma felszínes rétegeiben a stromális idegek konfokális corneamikroszkóppal követhetők, a mélyebb rétegekben az idegek nehezebben vizualizálhatóak. A Bowman-membránon áthaladó idegek a bazális epithelium sejtek alatt egy hálózatot képeznek, melyet szubbazális idegplexusnak nevezünk. Ez a hálózat javarészt a felszínnel párhuzamosan fut, és a centrum felé tart, azonban egyes ágak kiválva ebből a felszín felé fordulnak, és a felszínebb hámsejtek között vakon végződnek. Konfokális mikroszkóppal az idegek változatos lefutása, alakja jól ábrázolható (6. ábra). Az idegek jelentős része gyöngyfüzészerű megvastagodásokat mutat, melyek száma jól korrelál az ideg aktivitásával (31). A szubbazális idegek feladata kettős. Egyrészt érzőidegekkel szolgálnak a cornea számára, másrészt az epithelium ép működését támogatják (32-34).

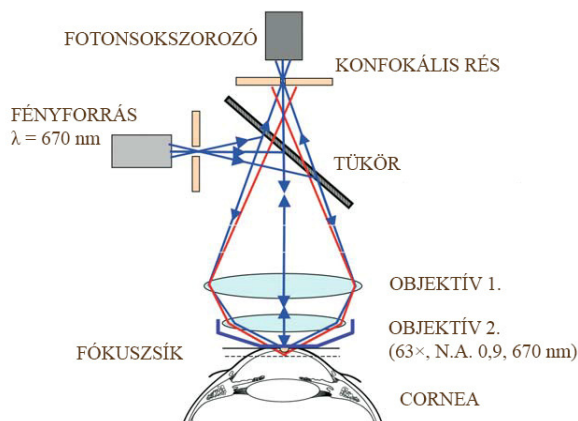


**6. ábra A szubbazális idegplexus konfokális corneamikroszkópos képe(34)**

## **2.2. Az in vivo konfokális corneamikroszkóp**

A cornea felépítésének részletes ismertetésében részben kitértem az egyes struktúrák konfokális corneamikroszkópos jellemzésére, azonban a munkánkban használt berendezés működési elvének és történetének ismertetését az alábbi fejezetekben szeretném összefoglalni.

A fénymikroszkópos vizsgáló módszerek fejlődésének egyik fő célja volt, hogy a leképezés relatív egyszerűségét a lehető legsokoldalúbb és legnagyobb felbontású képi feldolgozás szolgálatába tudja állítani. A hagyományos fénymikroszkópokkal szemben, ahol a minta egy meghatározott területét éri a megvilágítás, a konfokális mikroszkópnál a minta egy adott pontja kerül az adott időintervallumban leképezésre. Az objektív lencsén áthaladó lézersugár fókuszpontja a minta egy pontját éri, majd az innen kiinduló sugarak a gyűjtőlencsén áthaladva párhuzamosan futnak, és egy adott optikai rendszeren való áthaladás után egy adott fókuszpontban találkoznak. Ha egy kicsiny átmérőjű rést úgy helyezünk el, hogy nyílása éppen erre a fókuszpontra essen, ez nem befolyásolja lényegesen a fókusz síkból jövő fényt, viszont a fókusz síkon kívülről jövő fényt szinte teljesen kirekeszti (7. ábra).



**7. ábra A konfokális corneamikroszkóp működési elve (20)NA: numerikus apertúra.**

A konfokális elven nyert információ önmagában nem ad képet. Ahhoz, hogy képet kapjunk, a minta minden egyes pontját végig kell pásztáznunk (beam scanning). A detektor minden egyes pontban megméri a fény intenzitását, majd a megfelelő szoftverrel felszerelt számítógép elkészíti a képet. A mikroszkóp erőteljes felbontása révén lehetővé teszi a mikrométeres nagyságrendű tartományban lévő struktúrák in vivo elemzését, így a hagyományos szövettani eljárásokkal együtt járó invazivitás elkerülhető. A mai modern konfokális mikroszkópok laterális felbontóképessége kb. 1-2  $\mu\text{m}$ , míg axiális felbontóképessége 4-10  $\mu\text{m}$  körüli (35). A vizsgálati módszer valós idejű képalkotást tesz lehetővé, nem invazív, fájdalommentes, megbízható, jól reprodukálható, és tetszőleges számban megismételhető (22,36). A konfokális

corneamikroszkópia napjainkra a szemészeti klinikai vizsgálatok szerves részévé vált elsősorban a különböző etiológiájú keratitisek diagnózisában. Alkalmazási területének másik pillére a szemfelszín ép és kóros folyamatainak kutatási célú vizsgálata (8. ábra).



**8. ábra Konfokális corneamikroszkóp Rostock cornea modullal (HRT II, RCM)**

A berendezés egy speciális objektív (RCM) segítségével képes a cornea ultrastruktúráinak vizsgálatára *(saját anyag)*.

**2.2.1. A konfokális corneamikroszkópia története, fejlődése, típusai**

A szaruhártya ultrastruktúrájának vizsgálata a 20. század közepéig csak szövettani módszerekkel volt lehetséges. A cornea in vivo vizsgálatára pedig leginkább a réslámpa volt alkalmazható, azonban képalkotásából eredő korlátai miatt a cornea finomabb szerkezetének vizsgálatára alkalmatlannak bizonyult. A múlt század közepétől kezdődően az immunhisztokémia fejlődése és az elektronmikroszkópok megjelenése a szaruhártya szerkezetének további megismeréséhez vezetett, és egyúttal tovább mélyítette az űrt a cornea in vitro és in vivo vizsgálati lehetőségei között. A szöveti struktúrák in vivo megismerésének igénye tehát következményesen az optikai leképezés fejlődésének nyitott utat.

Minsky 1955-ben mutatta be az első konfokális elven alapuló mikroszkópot(37). A fénymikroszkópoknál megismert nem kívánatos optikai műtermékek elkerülése végett a Minsky-féle mikroszkóp az objektív fókuszsíkját (a minta élesre állított területe, optikai szelet) és a hátsó fókuszsíkot konjugált, konfokális viszonyba állítja. Ez alapján nevezte el Minsky ezt a technikát „konfokálisnak” (38).

A fókuszsíkon kívüli fotonok kirekesztése azt jelentette, hogy a fénymikroszkópokkal ellentétben itt a minta egy vékony „optikai” szeletéről éles kép volt nyerhető.



Petran és mtsai 1968-ban fejlesztették ki az ún. tandem scanning konfokális mikroszkópia (Tandem Scanning Confocal Microscopy, TSCM)módszerét. Az újítás a Nipkow-korong felhasználásán alapul, melyben több ezer archimédeszi spirálban elrendezett kb. 20-80 µm átmérőjű lyuk van elhelyezve.

A több ezer lyuk miatt egyidejűleg lehetséges a detektor és az illuminátor alkalmazása, így érvényesül a konfokális elv (39,40). A TSCM-rendszer hátránya, hogy a Nipkow-korongon a megvilágító fény csupán 0,5-1%-a halad át, és ezért a detektor megfelelő működéséhez nagyenergiájú fényforrást kellett alkalmazni (35). A TSCM-et hátrányai miatt ma már nem gyártják.

A scanning-slit konfokális mikroszkópia(Scanning-Slit Confocal Microscopy, SSCM) kifejlesztésében Svishchev, Maurice (41,42) és Koester nevét kell megemlíteni (43). Masters és Thaer nevéhez köthető az első valós idejű SSCM megalkotása(44).

Az SSCM berendezés két darab konfokális rést használ, amelyek elektromágneses úton mozgathatók. Az egyik rész a fényforrás, a másik a detektor előtt helyezkedik el. A készülék belsejében mozgatható tükörrendszer található, fényereje pedig jelentősen meghaladja a TSCM-ét (35). Az SSCM másodpercenként 25 képet készít, így a légzés és keringés által kiváltott mozgásokra kevésbé érzékeny(35). További előny, hogy egyidejűleg több pont leképezése történik meg, ami a vizsgálatot sokkal gyorsabbá és a beteg számára elviselhetőbbé teszi.

A Heidelberg Retina Tomograph (HRT) lényegét tekintve egy konfokális scanning laser ophthalmoscop, melyet a centrális retina és a papilla morfometriai elemzésére fejlesztettek ki. Guthoff és mtsai egy 40x0,65 (nagyítás/apertúra) immerziós ún. Rostock Cornea Modul (RCM, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Németország) frontlencserendszerrel látták el a HRT-t, ezzel alkalmassá téve a szaruhártya in vivo vizsgálatára. A berendezés a cornea in vivo vizsgálatán kívül alkalmas a szemfelszín egyéb struktúráinak feltérképezésére (45-49). Hátránya a kontakt módszerből adódik, hiszen a cornea vizsgálatakor a vizsgált felszín appanációja is bekövetkezhet, ez pedig műtermékeket okozhat(22). A védőkupak és a cornea felszín között alkalmazott kontakt gél használatával e zavaró hatás kiküszöbölhető.

### 2.3. A szemfelszín immunitása

A konfokális corneamikroszkóp felbontóképességének köszönhetően a szemfelszínen zajló immunológiai folyamatok teljesebb megértését segítheti a normál és patológiai állapotokban (48,50,51,52). A szemfelszínhez kötött immunválasz a lokális és szisztémás immunkompetens és parenchymális sejtek között megvalósuló komplex immunfolyamatok végeredménye, melyekben specializált sejt felszíni receptorok és szolubilis mediátoranyagok is részt vesznek. Az immunkompetens sejtek közül mind a limfoid (limfociták), mind pedig a myeloid sejt vonalat képviselő sejtek (makrofágok, polimorfonukleáris leukociták, eozinofil, bazofil granulociták és APS-ek) aktív szereplői a szemfelszíni immunfolyamatoknak (2). A szemfelszín jelentős részét borító kötőhártya a nyálkahártyával kapcsolódó immunrendszer (Mucosa Associated Lymphoid Tissue, MALT) része. Immunrendszerünk egy speciális, ún. szemhez kapcsolt limfoid szövetet (Eye Associated Lymphoid Tissue, EALT) is képez, mely a kötőhártyával kapcsolt limfoid szövettel (conjunctiva associated lymphoid tissue, CALT) és a könnyelvezető rendszerrel kapcsolt limfoid szövettel (lacrimal drainage associated lymphoid tissue, LDALT) együtt egy összefüggő hálózatot alkot, és olyan immunológiai feladatokat lát el, mint az immuntolerancia és az immunszuppresszió, hogy a szemfelszín homeosztázisát megteremtse (53). Ennek a védelmi rendszernek kettős, részben egymással ellentétes funkciója van. Egyrészt a kórokozó eliminálását kell megoldania, másrészt védenie kell a szemfelszínt és a mélyebb struktúrákat az immunrendszer effektor fázisának lehetséges destruktív hatásaitól. Habár a cornea integritásának védelmében a szaruhártya anatómiai felépítése elsődleges, a szemfelszínen zajló immunológiai folyamatok hozzájárulnak a cornea immunprivilegizált státuszának fenntartásához, megteremtve az alapvető feltételt a cornea transzparenciájának megőrzéséhez (53). Ez az immuntolerancia két alapvető szinten is megvalósul. Egyrészt a veleszületett immunrendszer elemein keresztül, melyben gyulladásellenes citokin produkció (Interleukin-10 (IL-10), IL-13), a kostimulatorikus molekulák (B7 és differenciálódási marker-40, cluster of differentiation-40, CD40) expressziójának gátlása és az antigént fagocitáló sejtek autofágiája is megvalósul, másrészt az adaptív immunrendszer modulálásán keresztül: autoreaktív T-sejt (Thymus eredetű sejtek) klónok negatív szelekciója, regulatorikus CD4+ T-sejtek és szupresszor funkcióval bíró CD8+ T-sejtek aktiválódása (5).

### 2.3.1. A szaruhártya immunitása

A szaruhártya legfontosabb tulajdonságának, az átlátszóságának biztosítása számos aktív immunológiai folyamat végeredménye, melyekben a vaszkularizáció- és gyulladás-ellenes immunmechanizmusok dominálnak. Ezekben a homeosztatisz folyamatokban a cornea hámsejtjei kiemelt szereppel bírnak. Az egészséges szaruhártya epithelium sejtjei folyamatosan szolubilis vaszkuláris endotheliális növekedési faktor receptor 1,3-at (Soluble Vascular Endothelial Growth Factors 1,3, s VEGFR-1,3) expresszálnak, mely endogén vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) csapdaként működve gátolja az ér- és nyirokéreképződést (2,54).

A thrombospondin-1 (TSP-1) és az interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) szintén a gyulladás okozta érújdonképződés hatásos inhibitorai közé tartozik (55,56). A szöveti metalloproteináz inhibitor 1-es és 2-es, melyet a könnyfilm is tartalmaz, szintén képes a szaruhártya-vaszkularizáció gátlására. A gyulladásos sejtinvázió ellen egy fontos szabályozó mechanizmus a hámsejtek Fas ligand expressziója, melynek szerepe van a T-sejt homeosztázis fenntartásában, hiszen a T-sejtek felszínén lévő Fas receptorral kapcsolódva a T-sejt programozott sejthalálát okozza (57). A szaruhártyában található saját, ún. rezidens APS-ek is hozzájárulnak a T-sejt toleranciához, azonban a szemfelszínt ért külső hatásokra az éretlen sejtalakok képessé válnak MHC II (Major Histocompatibility Complex, (Fő hisztokompatibilitási egység) és kostimulatorikus molekulák expresszáására (58,59). A proinflammatorikus citokinek, mint a TNF- $\alpha$  és az IL-1 szerepe elsődleges az immunválasz aktiválásában, míg a szöveti növekedési faktor- $\beta$ , (Tissue Growth Factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) IL-10 gyulladásellenes hatást fejt ki: gátolja az APS-ek érési folyamatait a szaruhártyában (60).

A szaruhártya hámja szervezetünk legsűrűbben beidegzett szerve: kb. hetvenezer idegvégződéssel bír. Az idegvégződések a szenzoros funkción túl vasoaktív intesztinális peptidet (Vasoactive Intestinal Peptide, VIP) termelnek. A VIP termelődése lokálisan antiinflammatorikus hatással bír: egyrészt a monocita/makrofág sejtek felszínén lévő VIP-receptorokon keresztül TGF- $\beta$  és IL-10 termelést indukál, másrészt gátolja ezen sejtek további TNF- $\alpha$  és IL-1 produkcióját (2).

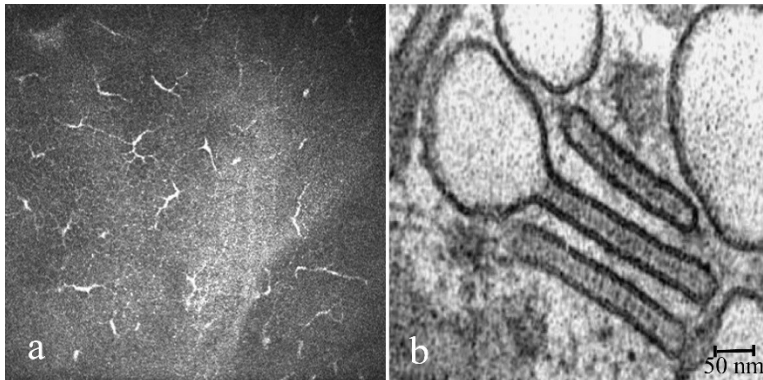
### 2.3.2. Antigén prezentáló sejtek

Az antigén bemutatás az antigén eredetének megfelelően endogén, exogén illetve keresztprezentáció során valósulhat meg. Az endogén prezentációra minden magvas sejt képes, melynek során intracelluláris peptid természetű anyagok MHC I molekulához kötötten tájékoztatják a T-sejteket a sejten belül zajló folyamatokról. Ezzel szemben az exogén anyagok felvétele döntően az úgynevezett hivatásos APS-ek feladata, melynek során az endo- és lizoszomális környezetbe bejutó exogén eredetű feldolgozott antigének MHC II molekulához kötődve kerülnek bemutatásra (2,61). Bizonyos sejtekben és mikrokörnyezeti feltételek mellett az exogén antigéneket nem az MHC II, hanem az MHC I molekula mutatja be az immunrendszer számára. Ekkor beszélünk a keresztprezentáció jelenségéről. Az APS-ek az antigén begyűjtésére és feldolgozására specializálódott sejtek megnevezései, és funkciójukból adódóan (örszem, sentinel sejtek) számos ún. internalizáló receptorral rendelkeznek (langerin, FC, komplement, scavenger). Feladatuk, hogy a processzált antigént a T-sejtek irányába bemutassák, és ehhez olyan stimulációs faktorokat is expresszáljanak, melyek a T-sejtek klonális sejtproliferációját és további differenciálódását segítik elő. Az APS-ek egy olyan nagy családot alkotnak, melynek a monocita-makrofág rendszeren kívül a B-sejtek és a DS-ek – beleértve a LS-eket – is részét képezik (62).

Engelmann már 1867-ben a cornea szövettani vizsgálatai során helyenként poligonális és nyúlvánnyal rendelkező sejtekről számolt be. Egy évvel később Paul Langerhans a bőr epidermisének vizsgálata közben fedezett fel az előzőekhez hasonló struktúrával bíró sejteket, azonban a corneális dendritikus sejtek funkciójának felderítésére még évtizedeket kellett várni (52). A corneát sokáig olyan immunprivilegizált szövetnek tartották, melyben immunológiailag aktív sejt nem fordul elő. Ez részben annak a ténynek tulajdonítható, hogy a többségében egészséges szaruhártyán rutinszerűen alkalmazott festési eljárások nem tették lehetővé a fő hisztokompatibilitási komplex markerrel rendelkező (MHC II+) sejtek kimutatását. A hisztokémia és elektronmikroszkópia fejlődése az 1960-80-as években egyértelműen tisztázta, hogy a cornea számos rétegében dendrittel rendelkező sejtek heterogén populációi vannak jelen. Állatkísérletes vizsgálatok pedig megmutatták, hogy az egészséges corneában nagy számban éretlen APS-ek találhatóak, melyek jelentős részben langerin+ dendritikus sejtek (58,59,63-65).

### 2.3.3. A Langerhans-sejtek (LS) szerkezete és funkciói

A corneális LS-ek az immunrendszer professzionális antigén prezentáló sejtjei közé tartoznak, olyan csontvelő eredetű DS-ek, melyek saját precursor sejtvonalból származnak (58) (9/a ábra). A LS-ek egy speciális fehérjét, a langerint expresszálják a sejt felszínén, valamint a cytoplazmában egy ún. Birbeck-granulomot tartalmaznak.



**9. ábra A corneális Langerhans-sejtek:** a) jellegzetes konfokális kép (saját anyag), b) a teniszütő alakú intracelluláris Birbeck-granulum (66).

A langerin-molekulát más APS-ek is képesek expresszálni, mint pl. a CD11+ sejtek, így jelenlétük LS-re nem specifikus. A Birbeck-granulum azonban kizárólagosan a LS-ek teniszütő alakú, elektronmikroszkóposan látható cytoplazmatikus organeluma (9/b ábra). Számos teória látott napvilágot a szerepükkel kapcsolatban, melyek közül a receptor mediált endocytosis és a langerin tárolása kiemelhető (67). Az LS-ek kb. 12-15  $\mu\text{m}$  átmérőjű sejtek, melyek hematoxillin-eozin festés során finom eozinofiliát mutatnak, vagyis relatív fehérjetartalmuk kevés. Az LS-ek a naiv T-sejtek aktiválásán keresztül a celluláris immunválasz kezdeti lépéseiben vesznek részt. MHC-II és kostimulatorikus molekulákat B7 (CD80/CD86), CD40 expresszálnak sejt felszínükön, melyek a további aktivációs lépésekhez elengedhetetlenek (58,68). Egészséges populációban a LS-sűrűség a cornea centrumában csekély (52). A cornea centrumában elhelyezkedő LS-ek sejt felszíni markereiket tekintve HLA-DR+/T6- (Humán leukocita antigén), mely ellentétben az epidermisben található LS-ekkel (HLA-DR+/T6+), egy differenciálatlan állapotban nyugvó sejt vonalnak tekinthető (63). Számos exogén és endogén stimulus az LS-ek centripetális vándorlását és maturációját váltja ki, mely érési folyamat jelzője az idegsejthez hasonlatos nyúlványok megjelenése (69,70) (9/a ábra).

## **2.4. A száraz szem betegség**

### **2.4.1. A száraz szem definíciója**

A száraz szem betegség a szemfelszín leggyakrabban előforduló megbetegedése, melyet ma egy olyan multifaktoriális betegségnek tartunk, ahol a könnyfilm és a szemfelszín kóros elváltozásai, valamint a könny emelkedett ozmolaritása és a szemfelszín gyulladása is bekövetkezik (71). Jelen fejezetnek nem célja a száraz szem problémakörének teljes körű ismertetése, csupán a dolgozat témájához kapcsolódó releváns adatok rövid bemutatása. A száraz szem diagnózisának felállítása, kezelése a mai napig kihívások elé állítja a szemorvosokat, és világviszonylatban az orvos-beteg találkozások egyik vezető okaként szerepel (72). Egyedül az Amerikai Egyesült Államokban közel ötmillió ötven éven felüli ember szenved száraz szem betegségben, és ennek többszöröse lehet az a szám, mely az enyhébb, vagy az olyan időszakos panaszokkal bíró betegeket jelöli, akik orvosi segítséget nem igényelnek (73). Általánosságban elmondható, hogy a lakosság kb. 5-30%-a érintett a megbetegedésben (74). A betegség súlyosabb formáiban a szem és környékének fájdalma az anginás rohamban tapasztalt fájdalom mértékével összemérhető (75). A betegség krónikus jellege miatt a száraz szem betegség a diszkomfort érzés és funkciókárosodás mellett lelki megterhelést is ró a betegre, mely kifejezett életminőség-romlást eredményezhet.

### **2.4.2. A száraz szem betegség felosztása**

A száraz szem betegséget alapvetően két típusra oszthatjuk fel: a könnyhiányon alapuló és a fokozott könnyvesztésen alapuló altípusokra (71).

#### *A könnyhiányon alapuló típus:*

A könnyhiányon alapuló formában a könnysekreáció-csökkenés a könnymirigy funkciócsökkenéséből vezethető le. Itt két altípusról beszélhetünk: egyrészt a Sjögren-(SS), másrészt a nem-Sjögren-szindróma (NSS) okozta száraz szem betegségről. Az SS egy exocrinopathia, ahol az immunológiai folyamatokban elsősorban a könny- és nyálmirigyek károsodnak, és ezáltal funkciójuk csökken, vagy teljesen elvész (76). Etiológiai faktorként számos szerző az Epstein-Barr, hepatitis C- és a T-sejtes leukémia vírus 1-es típusának szerepét is felvetette (76). A folyamatok más szisztémás betegség, mint pl. szisztémás lupus erythematosus (SLE), polyarthritis nodosa, progresszív

szisztémás sclerosis, vagy gyakran a rheumatoid arthritis (RA) részjelenségeiként is előfordulhatnak (4). A NSS-ban a könnymirigy diszfunkciója szisztémás autoimmun folyamatok hiányában is megvalósulhat. Leggyakoribb forma az életkorral összefüggő száraz szem betegség, amelyet a csökkent könnytermelés, a megnövekedett könny-ozmolaritás, a könnyfilm instabilitása jellemez (16).

*A fokozott könnyvesztésen alapuló típus:*

A nevéből adódóan a száraz szem betegség normális könnytermelés és fokozott könnyvesztés mellett alakul ki. Leggyakoribb oka a Meibom-mirigyek működési zavara (Meibomian Gland Dysfunction, MGD), ami nagyban befolyásolja a könnyfilm lipid tartalmának mennyiségi és minőségi mutatóit (77). Más gyakori okok lehetnek a szemhéjak hibás állása, neurológiai eltérések következtében kialakult szemhéjelváltozások, csökkent pislogás és A-vitamin hiány (2).

**2.4.3. A száraz szem diagnosztikája és kezelése**

A száraz szem diagnózis felállítására számos kvantitatív és kvalitatív teszt áll a szemorvos rendelkezésére, azonban a diagnózis felállítása gyakran nehéz, hiszen az objektív mérési eredmények és a szubjektív szempanaszok gyakran semmilyen összefüggést nem mutatnak (78). A diagnózis felállításának megkönnyítésére az elmúlt évtizedekben számos ajánlás fogalmazódott meg. Az első ilyen az 1985-ben megalkotott ún. klasszikus koppenhágai kritériumok (79,80). Ez a kritériumrendszer a könnyfilm felszakadási idejét (Tear break up time, TBUT), a könny mennyiségének mérését (Schirmer próba) és a szemfelszín bengálvörös festéséből származó adatokat használja (81). A tesztek bizonytalan reprodukálhatósága azonban idővel újabb kritériumrendszerek megszületéséhez vezetett.

A madridi hármás klasszifikáció (82,83) három szempont szerint csoportosítja a betegség megjelenési formáit: az etiológia, a hisztopatológiai háttér és a betegség súlyossági foka szerint (1. táblázat).

**1. táblázat A madridi hármass klasszifikáció kritériumrendszere (82)**

Szisztémás és helyi hatások		Hisztopatológia	Súlyossági fokozat
Életkor	Dysgenesis	Aqua (könnyterm.)	I (-) – szubklinikai forma
Hormonális	Gyulladás	Lipid deficiencia	I – enyhe; panaszok
Gyógyszerszedés	Trauma	Mucin elégtelenség	II – mérsékelt panaszok
Malnutrició	Neurológiai rendell.	Epitheliopathia	III – súlyos; állandó panaszok
Immun. betegség	Tantalus (ép könnytermelés mellett megjelenő panaszok)	Nem ocularis exocrinopathia	III (+) – nagyon súlyos forma, mely látásromlással jár

Az elmúlt évtizedben azonban egyre több klinikai vizsgálat bizonyította, hogy a szemfelszín gyulladása és a könnyfilm ozmolaritásának megváltozása a száraz szem kialakulásában döntő tényezők. Ennek megfelelően 2007-ben a Nemzetközi Száraz Szem Társaság a betegség új definícióját fogalmazta meg (71).

Az elmúlt években számos berendezés vált elérhetővé és vált a száraz szem betegség diagnosztikus eszköztárának részévé. Ma a klasszikus tesztek elvégzése mellett (TBUT, Schirmer, lisszamin zöld és bengálvörös festések) már egyes helyeken rutinszerűen végzik a szemhéjszéllel párhuzamos kötőhártyaredők vizsgálatát, a könnymeniscus interferometriás elven alapuló mérését. Az elülső optikai koherencia tomográfia (Optical Coherence Tomograph, OCT) pedig nemcsak a cornea és az elülső csarnok, de a könnymeniscus is jól vizsgálható (84,85).

A Keratograph 5M a Meibom-mirigyek vizsgálata mellett a könnyfilm felszakadási időt non-invazív módon képes mérni. A Tear Stability Analysis System szintén a könnyfilm integritásáról ad felvilágosítást. Semi-invazív eljárásként tarthatjuk számon a TearLab berendezést, mely a könny ozmolaritásának vizsgálatával segíti a száraz szem diagnózisának felállítását (86,87). A lipidréteg interferometriás mérésére a Tearscope mellett a LipiView berendezés szintén alkalmas. Az RPS InflammDry berendezés a könny matrix-metalloproteáz-9 (MMP-9) szintjének mérésével szolgáltat információt a szemfelszín gyulladásáról. A TearScan MicroAssay rendszer a könny Laktoferrin- és IgE-szintjének ellenőrzésével képes segítséget nyújtani az allergiás alapon, vagy annak hiányában kialakuló szemszárazsággal járó kórképek esetében (88-90).



Az EyePrim™ berendezés az impressziós citológiai eljáráshoz hasonlóan a szemfelszínről vesz mintát, azonban előnye, hogy a szemfelszín érzéstelenítését nem igényli. A klinikai gyakorlatban kevésbé alkalmazott eljárásokhoz sorolhatjuk ma már a Fermin-tesztet, illetve az olyan invazív eljárásokat, mint a conjunctivális impressziós citológia. A diagnosztikus eszköztárunk elengedhetetlen részét képezik a szubjektív panaszok felmérésére szolgáló különböző kérdőívek. Ezek közül a gyakorlatba leginkább a szemfelszíni betegség index (Ocular Surface Disease Index, OSDI) száraz szem kérdőívet alkalmazzuk. Schiffman és mtsai a teszt viszonylagos rövidege mellett elfogadható reprodukálhatóságáról számoltak be, azonban a száraz szem egyéb paramétereivel a teszt nem korrelált (91,92).

#### A száraz szem betegség kezelési lehetőségei:

Általánosságban elmondható, hogy a száraz szem betegség, ha véglegesen nem is gyógyítható, de az esetek döntő többségében jól kezelhető. Döntő fontosságú a betegek pszichés vezetése mellett az élet- és munkahelyi körülmények feltérképezése, valamint a betegség súlyosságának függvényében az életvezetési tanácsadás. A száraz szem betegség általános szorongást és félelmet is kiválthat, mely az életminőség nagyfokú csökkenésével járhat (93). Amennyiben a száraz szem betegség valamilyen immunológiai kórkép mellett alakul ki, akkor az interdiszciplináris együttműködés is kiemelt fontossággal bír.

A kezelés alappillére a különböző anyag-összetételű műkönyvek alkalmazása, melyeket a száraz szem betegség etiológiájának függvényében rendelhetünk: csökkent könnytermelésben pl. nátrium-kloridot, polivinil-alkoholt, míg a hipromellózt és karboximetil-cellulózt a könnyfilm instabilitásában alkalmazhatjuk. Amennyiben kifejezett festődést tapasztalunk, dextrans és retinol tartalmú műkönyvet választhatunk az epithelium regenerálódásának elősegítésére. A tartósítószer-mentes műkönyvek a tartósítószerre allergiás egyéneknek, illetve fokozott tartósítószer kontaktusnak és következményes irritációnak kitett szemek esetében ajánlottak (94,95).

A száraz szem betegségben a szemfelszín gyulladása is fennáll, ezért a különböző gyulladáscsökkentő szerek alkalmazásától a tünetek enyhülése várható (szteroid szemcseppek). A cyclosporine a T-sejt funkciók gátlásán keresztül csökkenti a szemfelszíni gyulladást (96). Az antibiotikumok, mint pl. doxycyclin, azithromycin,

tetracyclinek gyulladáscsökkentő hatása az MMP-9 szintézis, illetve a foszfolipáz A2 enzim gátlásán, és csökkent IL-6,8 termelődésen keresztül valósul meg. Az omega 3 zsírsavak a Meibom-mirigy szekrétaum olvadáspontjának csökkenésén keresztül hatnak (97). A szemhéjszél megfelelő ellátása (szemháj-toalett) szintén kiemelten fontos a száraz szem betegségben. Maskin és mtsai a Meibom-mirigyek szondázásával értek el kedvező eredményeket a MGD kezelésében, azonban módszerük ez idáig nem terjedt el (98). A könnypont elzárásával pedig a könny elfolyásából adódó veszteséget lehet csökkenteni.

#### **2.4.4. A száraz szem betegség immunpatológiai háttere**

A száraz szem betegség pathomechanizmusának feltérképezése a szemfelszíni immunológiai kutatások kiemelt területe, melyben elsősorban az állatkísérletes modelleken végzett vizsgálatok eredményeire támaszkodhatunk. Az elmúlt években számos tanulmány bizonyította, hogy a száraz szem betegség egy olyan krónikus gyulladós folyamat, melyben az autoreaktív CD4+ T-sejtek központi szerepet játszanak (99,100). A gyulladás kialakulásának pontos patomechanizmusa nem kellően feltárt, azonban a szemfelszínt ért stressz, a könny hiperozmolaritása és a könnyfilm integritásának megbomlása fontos lépések a gyulladós kaszkád-mechanizmusok megindításában. Az autoimmunitás patognomikus szerepét száraz szem betegségben számos bizonyíték támasztja alá: a száraz szem betegségben tapasztalt szemfelszíni gyulladós folyamatok egyéb autoimmun kórképeknél megismert immunfolyamatok jellegzetességeivel bírnak, valamint a szemfelszínen autoreaktív CD4+ T-sejt akkumuláció figyelhető meg (101). Ezen felül Niederkorn és mtsai száraz szem betegségben szenvedő egérből vett CD4+ T-sejtekkel egészséges, thymustól megfosztott egereken száraz szem betegség kialakulását igazolták (102).

A krónikus gyulladós folyamat elindításában a veleszületett immunitás elemei is szerepet játszanak (mintázatfelismerő receptorok), és a nukleáris faktor kappá béta (NF- $\kappa$ ) aktiválódása is bekövetkezik. A folyamatok végeredményeként metalloproteinázok, kemokinek és olyan proinflammatorikus molekulák termelődnek a corneában, mint az IL-1,6 és a TNF- $\alpha$  (2). A természetes ölkősejtek (Natural killer cells, NK) korai aktiválódása és interferon termelése, a fokozott hámsejtkárosodáson keresztül szintén a gyulladás kialakulásának irányába terelik az immunológiai folyamatokat.

Az afferens oldal döntő lépése és az immunológiai folyamatok egyik fő szabályozási színtere a naiv APS-ek aktiválódása. A folyamat számos citokin és kemokin szoros regulációja alatt történik meg, melynek során az APS-ek MHC-II és kostimulatorikus molekulákat (B7) expresszálnak, a környéki nyirokcsomókba vándorolnak, és aktiválják a naiv T-sejteket (54). Az APS-ek vándorlását a corneában megjelenő nyirokerek (54) mellett a kemokin receptor 7 (CCR7) molekula segíti (103), és hozzájárul a Th17 sejtklón indukciójához (99,103). A nyirokcsomókban és a szemfelszínen elsősorban a Th1 és Th17 típusú sejtek klonális expanzióját figyelték meg száraz szem betegségben (99,100). A Th17 szubpopuláció fokozott termelődését segíti, hogy a Treg-sejtek szabályozó mechanizmusaira a Th17-sejtek érzéketlenné válnak (104). Az autoreaktív Th1-, Th17-sejtek a nyirokcsomókból a szemfelszínre visszajutva IFN $\gamma$ -t, IL-1-et, IL-17-et termelnek, melyek hámsejtkárosodást indukálnak részben a metalloproteinázok aktiválódásán keresztül (100). A kialakult hámsejtkárosodás – mely a száraz szem betegség jellegzetessége – további proinflammatorikus citokin-felszabadulást és jelenlétet eredményez a szemfelszínen, mely következményesen újabb APS-ek aktiválódását, mobilizációját jelenti, megteremtve az alapvető feltételt a gyulladás krónikus jellegű kialakulásához. Schaumburg és mtsai állatkísérletes modelljükben klodronát adása mellett a szemfelszíni APS-ek depléciójával a száraz szem betegség jelentős javulásáról számoltak be. A hatás a környéki nyirokcsomók eltávolításának hatásával összemérhető volt, tehát igazolták, hogy az APS-jelenlét az autoreaktív T-sejtek kialakulásához elengedhetetlen feltétel (105). A száraz szem immunológiai hátterének számos aspektusa még nem kellően feltárt, és megoldásra vár. Hasonlóan számos autoimmun kórképhez, a krónikus gyulladásos folyamatokat elindító és fenntartó antigén vagy antigének beazonosítása még a jövő feladatai közé tartozik.

## **2.5. Gyulladásos reumatológiai kórképek**

A száraz szem kialakulása igen gyakori gyulladásos reumatológiai kórképekben és glaukómában, ezért érdemes áttekinteni ezek alapvető ismérveit. A gyulladásos reumatológiai kórképek közül a rheumatoid arthritis, a spondylitis ankylopoetica és a szisztémás lupus erythematosus rövid ismertetését tartjuk indokoltnak a munkánkban végzett vizsgálatok megvilágítása érdekében.

### **2.5.1. Rheumatoid arthritis (RA)**

Az RA egy ismeretlen eredetű, krónikus, szisztémás gyulladással megbetegedés. Elsősorban a kis és közepes ízületek szimmetrikus polyarthritise jellemzi. Az ízületi gyulladás destruktív, mely ízületi deformitáshoz, az érintett ízületek funkcionális károsodásához vezethet. Az extraartikuláris érintettség a rheumatoid csomók, a kis és közepes erek vasculitise, idegrendszeri szövődmények, szív-, tüdő-, veseérintettség emelendő ki. A gyakoribb osteoporosis kialakulásában az aktív alapbetegség és sekunder módon a glükokortikoszteroid terápia egyaránt szerepet játszik. Szemérintettség kapcsán sekunder SS, perifériás ulceratív keratitis, episcleritis, scleritis, akár scleromalacia perforans is előfordulhat. Az Egyesült Államokban becslések szerint 1-2 millió beteggel lehet számolni (106). A betegség Magyarországon kb. 80 ezer embert érint, prevalenciája a felnőtt lakosság körében kb. 0,5-1% (107). A nők két-háromszor gyakrabban érintettek, leggyakrabban 30-50 éves kor között manifesztálódik a betegség. Az RA pathomechanizmusában az autoantitestek közül ki kell emelnünk a rheumatoid faktor (RF) és az RA-ra specifikus citrullinált fehérje elleni antitestek (ACPA) csoportját.

A genetikai faktorok közül a shared-epitope (HLA-DR $\beta$ 1\*0101, 04 stb.) jelenléte, a környezeti faktorok közül a dohányzás jelent kiemelt kockázatot, azonban sem a genetikai tényezők, sem a környezeti hatások önmagukban nem elégségesek a betegség kialakulásához, ehhez a kettő komplex interakciója szükséges (108,109). A betegség súlyosságát jelzi, hogy tízéves fennállása után a betegek 2/3-ának alakul ki valamilyen funkcionális fogyatékosága, közel felük pedig munkaképtelenné válik (110).

### **2.5.2. Spondylitis ankylopoetica (Ankylosing Spondylitis, AS)**

A szeronegatív spondarthritisek csoportjába tartozó ismeretlen eredetű, gyulladással kórkép, melyet RF negativitás és a közös genetikai marker (HLA-B27) gyakori pozitívítása jellemez. A betegség progressziójával a gerincízületek krónikus gyulladása miatt osteophytak képződnek, és az ízületek csontosodása következik be. A gerinc mellett a végtagok töízületeinek, az íntapadási helyeknek és a perifériás ízületeknek a gyulladása is kialakulhat, utóbbi leginkább aszimmetrikus oligoarthritisek formájában. A mozgásszervi tünetek mellett gyulladással bélbetegség (Crohn-betegség vagy colitis ulcerosa) és pikkelysömör is előfordulhat. A betegség elsősorban a 20-as, 30-as éveikben járó férfiakban alakul ki. Prevalenciája Európában 0,24%, az Egyesült

Államokban 0,32%, míg Afrikában mindössze 0,07% (111). A HLA-B27 génvariáns AS-ban mintegy 90%-ban megtalálható, azonban szerepe a betegség patogenezisében ez idáig nem kellően tisztázott (112). Ismert, hogy míg a HLA-B27 génvariáns jelenléte AS-ban pathognomikus, addig HLA-B27+ egyének csak egy kis részében fejlődnek ki az AS betegségre jellemző tünetek. Ez a tény a környezeti faktorok szerepét hangsúlyozza az AS patogenezisében. Az antigén függő teória peptid elmélete szerint a HLA-B27+ betegek synoviális membrán proteinje kerül bemutatásra a T-sejteknek, és ezáltal indul meg a citotoxikus T-sejtek által mediált immunreakció. A mimikri elmélet szerint keresztreakció lép fel bizonyos baktérium proteinek és a saját antigének között, és ez atolerogén hatások gyengülésén keresztül vezet a betegséghez. Az antigéntől nem függő teória szerint a HLA-B27 fehérje harmadlagos struktúrájának kialakulásakor keletkező hiba okoz az endoplazmás retikulumban olyan fehérjefüggő válaszokat, melyek következményesen a betegség kialakulásához vezetnek (113). A betegség bármely szakában a mozgásszervi tünetek mellett bőr-(psoriasis), emésztőrendszeri (Crohn-betegség, colitis ulcerosa), szív- és érrendszeri érintettség (ingerületvezetési zavar, aorta insufficientia) is megjelenhet (114).

A gyulladás a synoviális membránok gyulladásán keresztül okozza a szervspecifikus elváltozásokat, melyek a szem esetében elsősorban uveitis képében jelentkeznek. Az uveitisek jelentős többsége ún. elülső uveitis, de a szemgolyó mélyebb részei is érintettek lehetnek a gyulladós folyamatokban. Az AS lefolyása során uveitis az esetek kb. 10-50%-ában, míg SS kb. 10%-ban jelenhet meg (115-117).

A szaruhártya az esetek döntő többségében nem érintett, azonban másodlagos módon az SS részjelenségeként, a könnytermelés elégtelensége miatt felszínes és mély ereződések, hegek és homályok alakulhatnak ki (117).

### **2.5.3. Szisztémás lupus erythematosus (SLE)**

Az SLE egy ismeretlen eredetű krónikus lefolyású szisztémás autoimmun betegség, melyben az immunválasz nukleáris és citoplazmatikus antigének ellen irányul. A gyulladás a szervezet bármely részében kialakulhat, mégis jellemzően a mozgásszervek, a bőr, a légzőrendszer, a vese és a szív érintett, valamint a változatos neuropszichiátriai tünetek szintén gyakoriak. Szemészeti szövődmények közül a száraz szem betegség mellett az episcleritis, scleritis, uveitis és a thromboembóliás szövődmények emelendők ki. A betegség lefolyása intermittáló, melyben a relatív

tünetmentes időszakokat a gyakran súlyos tünetekkel jelentkező, akár az életet fenyegető relapsusok válthatják (118). Az SLE elsősorban a fiatal nők betegsége, a betegség prevalenciája 0,52% az Egyesült Államok fehér lakosságának körében, míg 1% körüli az amerikai spanyol etnikum körében. A fekete nők négyszer gyakrabban érintettek, mint a fehér amerikai nők (119,120). Legalább harmincöt gént azonosítottak, melyek a betegség kialakulásában szerepet játszhatnak, azonban számos tanulmány a genetikai tényezők mellett a környezeti, hormonális hatások fontosságát hangsúlyozza a betegség patogenezisében (121,122). A betegséget egyértelműen meghatározó diagnosztikus marker jelenleg nem ismert. Az SLE diagnózisa az Amerikai Reumatológiai Kollégium (American College of Rheumatology, ACR) 1997-ben elfogadott kritériumai alapján történik (123).

#### **2.5.4. Gyulladásos reumatológiai kórképek kezelése a legújabb terápiás lehetőségek tükrében**

Napjainkban egyre több új támadáspontú gyógyszer alkalmaznak a gyulladásos reumatológiai kórképek kezelésében. Jelenleg a rheumatoid arthritis (RA) terápiájában a bázisterápiára (Betegségmódosító antireumás gyógyszer, DMARD) nem reagáló (DMARD-nonreszponder) betegek esetében az anti-TNF- $\alpha$ -terápia (adalimumab, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab) a következő lehetőség. Bár a biológiai terápiák bevezetése hatalmas előrelépést jelentett az RA terápiájában, a DMARD-nonreszponder betegek mintegy 30%-a az anti-TNF- $\alpha$ -kezelésre sem reagál. Szintén első vonalban használható biologikum az IL-6-receptor-antagonista (tocilizumab), és további terápiás lehetőségek a szelektív B-sejt gátló anti-CD20 antitest (rituximab) és a hazánkban nem elérhető IL-1-receptor-antagonista (anakinra). A T-sejt kostimuláció gátlása (abatacept) ugyan igen hatékonynak bizonyult RA-ban, a bevezetését költséghatékonysági szempontok teszik kérdésessé világszerte. A továbbra is megfigyelhető nonreszponderek és a biologikumokkal járó jelentős költségek újabb támadáspontú gyógyszerek fejlesztését indokolják. Ráadásul a folyamatos parenterális alkalmazás miatt újabban kis molekulású és költséghatékony orális készítményekkel folynak vizsgálatok. Ezek közül a kináz-gátlókkal kapcsolatban vannak biztató eredmények, bár a tofacitinibre vonatkozó engedélyezési kérelmet rheumatoid arthritisben az Európai Gyógyszerügynökség (European Medicines Agency) a mellékhatásokkal kapcsolatos kockázatot figyelembe véve elutasította.

A jelenleg alkalmazott biológiai terápiás készítmények további előnye, hogy az ízületi érintettségén túl hatékonyak további szervi érintettség, így bőr-, béltünetek és szemtünetek vonatkozásában is, bár ennek pontos hatásmechanizmusa nem teljesen ismert. Az előzőekben felsorolt lehetőségek a biológiai terápiák vonatkozásában elsősorban rheumatoid arthritisben jönnek szóba. Spondylarthropathiák vonatkozásában egyedül a TNF-gátlók hatékonysága bizonyított. Aktív SLE-ben használt belimumab egy human monoklonális antitest, mely a B-sejt aktiváló faktort vagy más néven a B-lymphocytá stimulátort gátolja. Rituximabbal elsősorban lupus nephritisben vannak biztató eredmények. Összefoglalva a hagyományos DMARD-terápia, a glükokortikoszteroidok alkalmazása, spondylarthropathiában pedig a nem szteroid gyulladáscsökkentők jelentik az első vonalbeli terápiát, ezek ineffektivitása esetén jönnek szóba biológiai terápiás készítmények, melyeket hatásmechanizmusukat tekintve célzott terápia néven is szokás emlegetni (124-126).

## **2.6. A glaukóma. A betegség előfordulási gyakorisága és klinikai jelentősége**

A glaukóma a világban a vakság és a csökkentlátóság egyik leggyakoribb oka, mely az életminőség nagyfokú csökkenéséhez vezet (127). Mai tudásunk szerint a nyitott zugú glaukóma olyan progresszív opticus neuropathia, amely a retinális ganglionsejtek progresszív pusztulásán és a látóidegfő extracelluláris szerkezetének patológiás megváltozásán keresztül a látásfunkciók jellegzetes, irreverzibilis károsodásához vezet. A nyitott zugú glaukómában alapvető a látóidegfő keringésének diszregulációja, amely nem ritkán a szisztémás vérkeringés szabályozási zavaraival jár együtt.

A krónikus nyitott zugú glaukóma prevalenciája kb. 1,5-3,0% a negyven éven felüli kaukázusi lakosság körében, de ismert, hogy a megbetegedés egyes rasszokban ennél lényegesen gyakrabban fordulhat elő (128,129).

A glaukómás betegek száma a várható élettartam meghosszabbodásával nő. Jelenleg a világon kb. 64,3 millió ember szenved glaukómában, és ez a szám 2020-ra kb. 76 millióra, 2040-re pedig 111,8 millióra nőhet (130). A betegség súlyosságát jelzi, hogy a World Health Organization szerint a regisztrált 37 millió vak ember közül 4,5-5 millió ember glaukóma következtében veszítette el a látását (131). Magyarországon évente több mint hatezerrel nő a vakok száma, és ebben előkelő helyet foglal el a glaukóma miatt kialakult funkciókárosodás (132).

### **2.6.1. A glaukóma kezelése és a szemfelszín**

A zöldhályog jelenlegi tudásunk szerint nem gyógyítható, az alkalmazott kezelési stratégiák elsődlegesen a betegség progressziójának csökkenését célozzák (133). A szemészeti kezelés egyetlen módja és célja a szemnyomás csökkentése, melyben az elérendő célnyomás a beteg individuális paramétereinek (életkor, várható élettartam, glaukómás károsodás mértéke, társbetegségek) függvényében értelmezhető. A leggyakrabban alkalmazott terápiás megközelítést a szemcseppek alkalmazása jelenti. A zöldhályog-ellenes helyi kezelés mellékhatásokat is eredményez, amelyek egy része a szemfelszín elváltozásaiban és száraz szem tünetekben nyilvánul meg (134-137). A különböző támadáspontú, kiterjesztett felhasználhatóságú antiglaukómás szemcseppek közös tulajdonsága, hogy valamilyen tartósítószerrel vannak ellátva, melyek közül a benzalkónium-klorid (BAK) gyakori felhasználása és gyulladáskeltő tulajdonsága miatt az utóbbi időben a kutatások középpontjába került. A szemfelszín gyulladása száraz szem kialakulásához vezethet, növeli a beteg panaszait, valamint áttételesen rontja a beteg együttműködését, és a filtrációs műtétek sikerességét. Az elmúlt időszakban számos BAK-mentes szemnyomáscsökkentő készítmény került forgalmazásba. Közülük a poliquaternium-1 vegyülettel tartósított travoprost (TravPQ) megbízhatóságban és hatékonyságban a BAK-kal tartósított travoprost (TravBAK) szemcseppel azonos értékűnek bizonyult (138,139), azonban gyulladáskeltő tulajdonságait illetően az irodalmi adatok nem egységesek. Az értekezés alapjául szolgáló dolgozatokban munkacsoportunk arra vállalkozott, hogy egy speciális képalkotó berendezéssel vizsgálja a corneális immunfolyamatokat három reumatológiai és egy szemészeti kórképben, és eredményeinket a száraz szem betegséget jellemző paraméterek tükrében értelmezze.



### 3. Célkitűzések

A szisztémás autoimmun kórképekben a fokozott proinflammatorikus citokin jelenlét a szemfelszínen is érvényesülhet. A cornea lehetséges szerepe, immunitása azonban nem kellően ismert a különböző etiológiájú betegségekben. Ezekben a kórképekben a száraz szem előfordulása az átlagpopulációban tapasztalható gyakoriság többszöröse. A másodlagos Sjögren-szindrómával párosult csökkent könnytermelés gyakori mechanizmus a száraz szem kialakulásának tekintetében ezekben a gyulladással járó kórképekben, azonban az igazolt másodlagos Sjögren-szindróma és a száraz szem betegség előfordulási gyakorisága közötti inkongruencia egyéb mechanizmusok jelenlétére is utalhat.

Munkáinkban arra kerestük a választ, hogy a szisztémás autoimmun kórképekben alapvető általános gyulladás, a betegség aktivitása, az alkalmazott kezelés milyen immunológiai változásokat indukálhat a szaruhártyában, illetve a szisztémás gyulladás milyen összefüggést mutathat a száraz szem betegséggel, annak kialakulási módjával.

#### 3.1. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek rheumatoid arthritisben

##### A száraz szem vizsgálata

Célkitűzésem volt, hogy felmérjem RA-ban a betegek száraz szemmel kapcsolatos szubjektív panaszait és vizsgáljam a száraz szem betegség jellegzetességeit leíró objektív tüneteket.

##### A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata

Célkitűzésem volt a cornea immunstátuszának a feltérképezése. Ehhez a corneális LS-ek vizsgálatát kívántam elvégezni RA-ban. A LS-sűrűség mellett a LS-ek morfológiai jellegzetességeinek vizsgálatát is célul tűztem ki a cornea centrumban és a periférián. A sejtek morfológiáját mérőszámmal kívántam jellemezni, mely a LS-ek aktivitását, érettségét jelezte.

Mind a száraz szem paraméterek, mind a LS vonatkozásában nyert eredményeinket az alábbi változók függvényében kívántam értelmezni:

- a betegség súlyosságát mérő ún. betegség aktivitási index (DAS-28),
- a TNF- $\alpha$  gátló kezelés,
- a Disease Modifying Antirheumatic Drugs (DMARD) terápiák.

### **3.2. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek spondylitis ankylopoeticában**

#### A száraz szem vizsgálata

Célkitűzésem volt a száraz szem betegség felmérése AS-betegeken. A betegek szubjektív panaszai mellett a száraz szem betegség jellegzetességeit leíró objektív tünetek vizsgálatát is el kívántam végezni.

#### A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata

Az RA-betegcsoporton végzett vizsgálatoknak megfelelően célom volt a corneális LS-sűrűségének és aktivitásának leírása AS-ban a cornea centrumában és a periférián.

További célom volt a száraz szem és a LS-paraméterek elemzése az alábbiak alapján:

- a betegség súlyosságát mérő Bath spondylitis ankylopoetica betegség aktivitási index (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI),
- a szisztémás gyulladás jellemzésére használható C-reaktív protein (CRP) vérben mért szintje,
- a betegségben gyakran előforduló HLA-B27 antigén jelenléte,
- a kórelőzményben uveitis előfordulása.

### **3.3. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek szisztémás lupus**

#### **erythematosusban**

#### Száraz szem paraméterek

SLE betegségben szenvedő betegeknél célom volt felmérni a betegek száraz szemmel kapcsolatos szubjektív panaszait és a száraz szem betegség jellegzetességeit leíró objektív tüneteket.

#### A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata

Az RA- és az AS-betegcsoportokon történt vizsgálatokat követően célunk volt SLE-ben is meghatározni a szaruhártya LS-ek számát és aktivitását a cornea centrumában és a periférián.

A száraz szem paraméterek és a LS-denzitás és -morfológiai adatokat az alábbi változók függvényében elemeztük:

- a betegség súlyosságát mérő ún. szisztémás lupus erythematosus betegség index (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, (SLEDAI),
- a CRP vérben mért szintje.
- a könnytermelés.

### **3.4. A tartósítószer szerepe a corneára a glaukóma travoprost kezelésében**

Az általános gyulladással járó autoimmun betegségek mellett a szemfelszín homeosztázisa glaukómában is sérülhet, ahol a szemfelszínt ért stresszhatás nagysága a szemcseppekben alkalmazott tartósítószer gyulladáskeltő tulajdonságainak függvényében is értelmezhető. A lokális stressz a cornea epithelsejtjeinek számbeli eltéréséhez is vezethet, mely összefüggést mutathat a kialakult gyulladás nagyságával. Az irodalom egységes a BAK gyulladáskeltő tulajdonságának vonatkozásában, azonban a poliquaternium tartósítószer gyulladáskeltő hatásának vizsgálata ellentmondásos eredményekhez vezetett.

#### Száraz szem paraméterek

Kétféle tartósítószeret tartalmazó travoprost szemcseppet használó glaukómás betegeknél célom volt meghatározni a glaukómás betegcsoportokban a betegek szubjektív panaszait és megvizsgálni a betegség jellegzetességeit leíró objektív tüneteket.

#### A corneális epithelium és a Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata

Célom volt a szaruhártya centrális területén a szárnyas és bazális hámsejtek sűrűségének elemzése. Ezeken felül célom volt a centrális és a perifériás corneális LS-ek sűrűségének és morfológiájának vizsgálata glaukómában konfokális corneamikroszkóppal kétfajta tartósítószeret tartalmazó travoprost esetében.

## **4. Módszerek**

### **4.1. Etikai engedély**

Vizsgálatainkat a jelenleg hazánkban hatályban lévő jogszabályi feltételek mellett végeztük: ETT TUKEB 15410-2/2011-EKU (490/PI/11.) engedély birtokában Budapest Főváros Kormányhivatala Népegészségügyi Szakigazgatási szervének jóváhagyásával (Engedélyszáma: 220/2012). Minden vizsgálatba bevont személy esetében a kutatásban résztvevő egyetemek szabályzataival, illetve a Helsink Deklarációban foglalt kutatási irányelvekkel összhangban jártunk el. A vizsgálatok előtt a résztvevők részletes felvilágosítást kaptak a vizsgálati módszerekről, illetve biztosítottuk őket arról, hogy beleegyező nyilatkozatukat a vizsgálatok alatt bármikor visszavonhatják.

### **4.2. Vizsgálatba bevont betegek és kontroll személyek**

A gyulladással járó kórképekre irányuló vizsgálatainkat a Szegedi Tudományegyetem Reumatológiai Klinikával és az Országos Reumatológiai és Fizioterápiás Intézettel (ORFI) együttműködve kontrollcsoportok bevonása mellett végeztük. A betegség fennállásának idejét a diagnózis felállítása és a szemészeti vizsgálat között eltelt idő jelentette.

A betegbeválasztás kritériumaként a gyulladással járó autoimmun reumatológiai kórképeket és olyan primer nyitott zugú glaukómát jelöltünk meg, ahol a glaukómás betegek a diagnózis felállítását követően travoprost monoterápiára voltak beállítva. A szemészeti vizsgálat időpontjában a betegeknek szemészeti kezelést igénylő szemészeti tünetek nem voltak. AS-ban 50%-ban a HLA-B27 antigénnel rendelkező betegeket vontuk be.

A betegek kizárási kritériumát a következők szerint határoztuk meg. Kizártunk minden olyan beteget, akik szemészeti gyulladással járó kórképben szenvedtek a vizsgálatokat megelőző egy évben, beleértve az uveitises epizódokat is. Korábbi szemészeti műtétek, a szaruhártya betegségei, hegei, homályai, cukorbetegség, kontaktlencse-viselés szintén a betegek kizárását jelentették. Fontos kizárási kritérium volt a másodlagos SS-betegség megléte, amit immunológus szakorvos a szemészeti vizsgálatokat megelőzően az Amerikai-Európai konszenzus kritériumrendszer szerint diagnosztizált (140). Ez az ajánlás hat kritériumtünetet vizsgál: szubjektív szem- és szájszárazsággal kapcsolatos tünetek, objektív szemtünetek, szövettani vizsgálat (kisnyálmirigy biopszia), nyáltermelés vizsgálata és autoantitestek jelenléte a szérumban (2. táblázat).

A másodlagos Sjögren-szindróma meglétének igazolásához az alábbi kritériumtünetek megléte szükséges: jól definiált autoimmun betegség megléte mellett az egyik szubjektív tünet (I. vagy II.), valamint az autoantitesteken kívül a többi, a III., IV., V. kritériumtünet közül kettő jelenléte. Azokat a betegeket, akiknél a könnytermelés 5mm/5perc alatt volt, nem zártuk ki automatikusan, amennyiben más, a fenti kritériumrendszerben leírt funkcionális teszt negatív eredményt hozott, és az anti-Ro(SSA) vagy az anti-La(SSB) antitestek nem voltak kimutathatóak.

## **2. táblázat A Sjögren-szindróma diagnosztikája (140)**

### **I. Szubjektív szemtünetek: legalább egy „igen“ válasz az alábbi kérdésekre:**

---

1. Volt-e naponta jelentkező, perzisztáló, zavaró szemszárazsága az utóbbi három hónapban?
2. Van-e visszatérő idegentestérzése (mintha homok lenne a szemében)?
3. Kell-e műkönnyet használnia naponta több mint három alkalommal?

### **II. Szubjektív szájtünetek: legalább egy „igen“ válasz az alábbi kérdésekre:**

---

1. Volt-e naponta szájszárazsága az utóbbi három hónapban, vagy régebben?
2. Volt-e folytonos vagy visszatérő nyálmirigyduzzanata felnőtt korában?
3. Gyakran kell-e folyadékot fogyasztania szilárd ételek lenyeléséhez?

### **III. Objektív szemtünetek: legalább egy teszt pozitivitása az alábbiak közül:**

---

1. Schirmer-teszt, érzéstelenítés nélkül végezve:  $\leq 5$  mm/5 perc
2. Bengálvörös érték (vagy egyéb festéssel végzett teszt):  $\geq 4$ . (van Bijsterveld szerint)

### **IV. Szövettan:**

---

Kisnyálmirigy-biopszia (amelyet makroszkóposan normálisnak tűnő területről vesznek) során fokális limfocitás sialoadenitis  $\geq 1$  beszűrődéses góc (focus score, amely  $4 \text{ mm}^2$ -enként több mint 50 limfocitát tartalmaz a normál acinusok mellett).

### **V. Nyálmirigy érintettség objektív igazolása: legalább egy teszt pozitivitása az alábbiak közül:**

---

1. Csökkent nem-stimulált nyáleválasztás ( $\leq 1,5$  ml/15 perc).
2. Parotis sialographia során diffúz sialectasia, a nagy kivezetőcsövekben lévő obstrukció kizárásával.
3. Nyálmirigy-szcintigráfia során az izotóp késői felvétele, csökkent koncentrációja, és/vagy elhúzódozó kiválasztása.

### **VI. Autoantitestek: a következők jelenléte a szérumban:**

---

1. Anti-Ro/SS-A vagy anti-La/SS-B, vagy mindkettő.

#### 4.2.1. Rheumatoid arthritis

##### 4.2.1.1. Rövid, pilot jellegű tanulmány

Az RA diagnózisának felállítása az Amerikai Reumatológiai Kollégium és az Európai Reumaellenes Liga (American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR criteria) érvényben lévő ajánlása alapján történt, a betegség súlyosságának besorolását pedig a betegség aktivitási érték (DAS-28) szerint végeztük (141). A vizsgálatba 22 RA-beteget és 18 kontrollszemélyt vontunk be. A betegség aktivitásban a két betegcsoport összemérhető volt ( $p=0,24$ ). Az életkorban nem volt szignifikáns különbség a csoportok között ( $p>0,05$ ). Az RA(b) csoportban monoterápiában hat, míg methotrexáttal (MTX) kombinált terápiában két beteg részesült. Nyolc esetben MTX és sulfasalazin, két esetben chloroquin és methylprednisolon, négy esetben leflunomid és methylprednisolon terápia mellett voltak egyensúlyban a betegek. A demográfiai jellemzőket és a betegre vonatkozó adatokat a 3. táblázatban foglaltuk össze.

**3. táblázat. A kontroll- és a betegcsoportra jellemző demográfiai adatok RA (b) – biológiai terápiában, RA (k) – DMARD terápiában részesülő RA-betegek csoportjai. DAS-28 – betegség aktivitási index 28 ízület vizsgálatával. DMARD – betegségmódosító antireumás gyógyszer. Az adatok átlag  $\pm$ SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.**

	Kontroll (n=18)	RA(b) (n=8)	RA(k) (n=14)	RA (n=22)
Kor (év)	60,8 $\pm$ 8,2	51,2 $\pm$ 10,4	60,07 $\pm$ 10,7	56,8 $\pm$ 11,2
Nem (nő/ffi)	9/9	8/0	12/2	20/2
Betegség időtart. (év)	-	10,8 $\pm$ 9,1	8,6 $\pm$ 9,7	9,47 $\pm$ 9,3
DAS-28	-	3,006 $\pm$ 1,0	3,003 $\pm$ 1,7	3,004 $\pm$ 1,1

#### 4.2.1.2. Nagyobb RA-populáción végzett vizsgálat

A pilot-tanulmány tanulságainak összegzése után a Szegedi Tudományegyetem Reumatológiai Tanszékével közösen 52 RA-ban szenvedő és 24 egészséges kontrollszemély bevonásával végeztük el a vizsgálatainkat. Az életkorban nem volt szignifikáns különbség az RA és a kontrollcsoport között ( $p=0,324$ ). Az RA-betegcsoportban látható a női nem dominanciája, mely jól jellemzi a betegség nemi eloszlását. Az alcsoport analízisekben az alacsonyabb betegség aktivitást a  $DAS-28 \leq 2,6$ , a magasabb aktivitást a  $DAS-28 > 2,6$  jelentette. A betegre vonatkozó adatokat a 4. táblázatban foglaltuk össze.

**4. táblázat A kontroll- és az RA-betegcsoport demográfiai és klinikai jellegzetességei** *DAS-28 – betegség aktivitási index 28 ízület vizsgálatával. TNF- $\alpha$  – tumor nekrozis faktor alfa. DMARD – betegségmódosító antireumás gyógyszer. Az adatokat mediánban adtuk meg [interkvartilis terjedelem]. Statisztikai elemzés: t-teszt (Box-Cox transzformációval).*

Jellemzők	Kontroll (n=24)	RA-betegek (n=52)
Életkor (év)	61 [52,7-67]	58 [49-66]
Nem (férfi/nő)	10/14	9/43
RA-betegség fennállásának időtartama (év)	-	8 [3,75-15]
DAS-28	-	2,30 [1,76-3,52]
TNF- $\alpha$ gátló terápián lévő egyének száma	-	23 (44,2%)
DMARD terápián lévő egyének száma	-	29 (55,8%)
Glükokortikoszteroid terápián lévő egyének száma	-	16 (30,8%)

#### 4.2.2. Spondylitis ankylopoetica

24 AS-beteg és 24 kontrollszemély klinikai jellemzőit és demográfiai adatait a 5. táblázatban tüntettük fel. Az AS-betegségre jellemző férfi dominancia és fiatalabb életkor az általunk végzett vizsgálatban is szembetűnő volt. Az életkorban nem volt szignifikáns különbség a vizsgált csoportok között ( $p=0,102$ ). AS-ban a diagnózis felállítását a módosított New York-i kritériumrendszer alapján végeztük (142), a betegség súlyossági fokának megállapításában pedig a hat kérdésből álló BASDAI betegség aktivitást mérő kérdőívet alkalmaztuk. Az alcsoport analízisekben az alacsonyabb betegség aktivitást a  $BASDAI \leq 4,0$ , a magasabb aktivitást a  $BASDAI > 4,0$  jelentette. A betegek betegség aktivitását jellemző medián BASDAI-érték 3,2 volt, mely egy közepes betegségaktivitást jelent, és a specifikus betegbeválogatás eredménye. A beválogatás időpontjában valamennyi AS-beteg legalább 3 hónapja anti-TNF- $\alpha$  terápián volt, emellett 62%-uk (15 beteg) kiegészítő kezelésként nonszteroid gyulladáscsökkentő gyógyszereket, 25%-uk (6 beteg) pedig sulfasalazint kapott. Vizsgáltuk a betegek HLA-B27 antigén jelenlétét, a szemészeti kórelőzményben az uveitis előfordulását, az általános gyulladást jellemző CRP-szintet, melyeket az alcsoport analízisekben is felhasználtunk.

Hét esetben a kórelőzményben elülső uveitis szerepelt, mely minden esetben az alkalmazott kezelésekre jól reagált, és a betegeknél a vizsgálatokat megelőző egy évben visszaesés nem következett be. A szisztémás gyulladás jellemzésére és nyomon követésére használt medián CRP-érték 12,0 volt, és a magasabb betegségaktivitással rendelkező betegek beválogatásának következménye.



**5. táblázat A kontroll- és az AS-betegcsoportra jellemző demográfiai adatok**  
*BASDAI – Bath spondylitis ankylopoetica betegség aktivitási index. HLA-B27 – humán leukocita antigén-B27. CRP – C-reaktív protein. Az adatokat mediánban adtuk meg [interkvartilis terjedelem]. \*  $p < 0,05$  vs. kontroll. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.*

Jellemzők	Kontroll (n=24)	AS-betegek (n=24)
Életkor (év)	52,5 [34-64]	39,5 [34-52]
Nem (férfi/nő)	19/5	21/3
AS fennállása (év)	-	9 [7-13]
BASDAI	-	3,2 [1,5-4,4]
HLA-B27 pozitív betegek száma	-	12 (50%)
Uveitis a kórelőzményben	-	7 (29%)
CRP (mg/l)	3,2 [2,2-4,2]	12,0* [2,5-30,6]

#### 4.2.3. Szisztémás lupus erythematosus

A szisztémás lupus erythematosusban szenvedő betegek klinikai és demográfiai jellegzetességeit az 6. táblázat foglalja össze. A férfi/nő arány között nem volt szignifikáns különbség a két csoport között ( $p=0,18$ ). Az életkorban nem volt szignifikáns különbség a csoportok között ( $p=0,512$ ). SLE-ben a diagnózis felállítása az Amerikai Reumatológiai Kollégium (ACR) 1997-es kritériumrendszere alapján történt (123). Az SLE-betegség aktivitásának felméréséhez az SLE-betegség aktivitást mérő indexet (SLEDAI) alkalmaztuk, mely kilenc szerv állapotát vizsgálja egy 24 pontból álló kérdéssor segítségével. Az alcsoport analízisekben a remisszióban lévő betegek esetében a SLEDAI=0, az alacsonyabb betegség aktivitást a SLEDAI $\leq$ 8, a magasabb aktivitást a SLEDAI $>$ 8 jelentette. A betegség átlagos aktivitása alacsony volt. A huszonhét betegből nyolc esetben a SLEDAI-érték nulla volt, és csak három betegnél regisztrálhattunk nyolcnál magasabb értéket, mely a betegség magasabb aktivitását jelentette. Vizsgáltuk továbbá a CRP-, a vérsüllyedés (erythrocyte sedimentation rate, ESR), valamint az anti-DNS (anti-dezoxiribonukleinsav) értékeket, amelyekből a

tanulmányunkban a CRP-t mint az általános gyulladást jellemző számértéket szerepeltettük. Az alcsoport analízisekben a CRP-érték esetében a mérsékeltebb gyulladást a  $CRP \leq 5$  mmol/l, míg a magasabb szisztémás gyulladást a  $CRP > 5$  mmol/l jelentette.

**6. táblázat A kontroll- és az SLE-betegcsoportra jellemző demográfiai adatok**

*Anti-DNS – Anti-dezoxiribonukleinsav, CRP – C-reaktív protein, ESR – vérsüllyedés (erythrocyte sedimentation rate), SLEDAI – szisztémás lupus erythematosus betegség aktivitási index. C3 és C4 –komplement 3-as és 4-es faktor. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. A minimum-maximum értékeket a táblázatban szintén feltüntettük. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.*

Jellemzők	Kontroll (n=27)	SLE-betegek (n=27)
Életkor (év)	40,4 $\pm$ 19,3 (18-72)	42,8 $\pm$ 11,4 (24-63)
Nem (nő/ffi)	21/6	25/2
SLE fennállása (év)	-	10,5 $\pm$ 8,9 (0,5-36)
SLEDAI	-	3,21 $\pm$ 4,34 (0-19)
CRP (mg/L)	-	6,4 $\pm$ 8,3 (0,2-27,4)
ESR (mm/h)	-	27,3 $\pm$ 19,1 (3-73)
Anti-DNS (IU/mL)	-	36,1 $\pm$ 46,05 (1-220)
C3 (mg/dL)	-	103,7 $\pm$ 34,9 (28,5-169)
C4 (mg/dL)	-	16,8 $\pm$ 8,7 (13,0-22,3)
Glükokortikoszteroid terápian lévő betegek	-	26 (96%)
Chloroquine terápian lévő betegek	-	23 (85%)
Azathioprine terápian lévő betegek	-	11 (40%)
Methotrexate terápian lévő betegek	-	6 (22%)

#### 4.2.4. A tartósítószer szerepe a corneára a glaukóma travoprost kezelésében

A vizsgálatba bevont személyek demográfiai jellemzőit és a terápia alapján képzett csoportok jellegzetességeit a 7. táblázat tartalmazza. A vizsgált csoportok kor és nem szerinti eloszlásban összehasonlíthatóak voltak ( $p>0,05$ ). A két glaukómás betegcsoport között nem volt szignifikáns különbség a terápia alkalmazásának idejében ( $p=0,230$ ). A betegek a diagnózis felállítását követően a fenti monoterápia egyikére voltak beállítva, és egyéb szemcseppet nem használtak.

**7. táblázat A glaukómás betegek, illetve az egészséges kontroll demográfiai adatai** TravBAK – benzalkónium-kloriddal tartósított travoprost. TravPQ – poliquaternium-1 vegülettel tartósított travoprost. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.

Csoportok	Kor (év)	Nem (nő/ffi)	Terápia alkalmazása (év)
Kontroll (n=19)	63,8 $\pm$ 8,2	10/9	0
Betegek(TravBAK) (n=19)	64,8 $\pm$ 13,6	8/11	1,76 $\pm$ 0,9
Betegek(TravPQ) (n=19)	66,8 $\pm$ 11,3	9/10	1,69 $\pm$ 0,8

### 4.3. Vizsgálati módszerek

#### 4.3.1. A száraz szem vizsgálata

A száraz szem paraméterek vizsgálata meghatározott sorrendben történt. Először a szubjektív panaszok leírására használt szemfelszíni betegség indexet (Ocular Surface Disease Index, OSDI) határoztuk meg. Az OSDI-kérdőívet a vizsgálati alanyok a vizsgáló segítségével kitöltötték, majd a kontrollszemélyek és betegek réslámpás vizsgálata következett, melynek során a szem függelékeinek, a szemfelszínnek és a mélyebb részeknek az áttekintő vizsgálatát is elvégeztük. A temporális bulbáris kötőhártya és az alsó szemhéj találkozásánál meghatároztuk a szemhéjszéllel párhuzamos kötőhártyaredő (Lid Parallel Conjunctival Folds, LIPCOF) értéket. Ezt követően a könnytermelés mérését végeztük (Schirmer-teszt), majd a könnyfilm stabilitását jellemző könnyfilm felszakadási időt (Tear Break Up Time, TBUT) vizsgáltuk. Kutatásainkban a jobb szem vizsgálatával nyert eredményeinket használtuk.

A szubjektív száraz szem panaszok jellemzésére szolgáló OSDI-teszt meghatározása

A vizsgálatokba bevont személyek a vizsgáló személyzet segítségével egy ún. OSDI-tesztet töltöttek ki, mely egy 12 kérdésből álló kérdőív (10. ábra). Szerkezetileg a teszt három kisebb témakört ölel át, mint a szemmel kapcsolatos szubjektív panaszok, a szem funkcióját érintő esetleges eltérések (mint pl. az olvasási képességben bekövetkezett változás), illetve a környezeti faktorok szemre gyakorolt hatásának mérése.

Az OSDI-értéket az alábbi képlettel számoltuk:  $OSDI\text{-érték} = \frac{\text{a kapott érték} \times 25}{\text{a megválaszolt kérdések száma}}$ . A kapott értékek alapján a vizsgált csoportokban lévő személyek szubjektív száraz szem panaszai számszerűsíthetőek és összemérhetőek.

**Ocular Surface Disease Index<sup>®</sup> (OSDI<sup>®</sup>)<sup>2</sup>**

Ask your patient the following 12 questions, and circle the number in the box that best represents each answer. Then, fill in boxes A, B, C, D, and E according to the instructions beside each.

**HAVE YOU EXPERIENCED ANY OF THE FOLLOWING DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time
1. Eyes that are sensitive to light?	4	3	2	1	0
2. Eyes that feel gritty?	4	3	2	1	0
3. Painful or sore eyes?	4	3	2	1	0
4. Blurred vision?	4	3	2	1	0
5. Poor vision?	4	3	2	1	0

Subtotal score for answers 1 to 5

**HAVE PROBLEMS WITH YOUR EYES LIMITED YOU IN PERFORMING ANY OF THE FOLLOWING DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	
6. Reading?	4	3	2	1	0	N/A
7. Driving at night?	4	3	2	1	0	N/A
8. Working with a computer or bank machine (ATM)?	4	3	2	1	0	N/A
9. Watching TV?	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 6 to 9

**HAVE YOUR EYES FELT UNCOMFORTABLE IN ANY OF THE FOLLOWING SITUATIONS DURING THE LAST WEEK:**

	All of the time	Most of the time	Half of the time	Some of the time	None of the time	
10. Windy conditions?	4	3	2	1	0	N/A
11. Places or areas with low humidity (very dry)?	4	3	2	1	0	N/A
12. Areas that are air conditioned?	4	3	2	1	0	N/A

Subtotal score for answers 10 to 12

**10. ábra A száraz szem panaszok jellemzésére szolgáló OSDI-kérdőív (91)**

A szemhéjszéllel párhuzamos redők megfigyelése és osztályozásuk

A szemhéjszéllel párhuzamos redők a kötőhártya sajátos redőszerű megvastagodásai, melyek mértéke több egymástól független szerző szerint a száraz szem súlyosságának leírására használható és objektívizálható mérőszám (84,143). A kötőhártyaredők mind a temporális bulbáris kötőhártyán, mind pedig a nasalis oldalon megfigyelhetők száraz szem betegségben, azonban vizsgálatunkban a temporális redők vizsgálatából kapott értékeket használtuk. Az alábbi táblázat a súlyosság és a LIPCOF-értékek összefüggéseit mutatja (8. táblázat).

**8. táblázat A szemhéjszéllel párhuzamosan elhelyezkedő kötőhártyaredők osztályozási kritériumai (143)**

Kritérium	LIPCOF
nincsen conj. redő	0
1 db jól látható conj. redő	1
2 db jól látható conj. redő, magasság <0,2 mm	2
több mint 2 db jól látható conj. redő, magasság >0,2 mm	3

A könny mennyiségének mérésére szolgáló Schirmer-teszt meghatározásaSchirmer I próba

A könny termelésének mérésére használt vékony papírcsíkot (ST strip Ref:4701001; Haag-Streit, Harlow, UK) az alsó áthajlásba helyeztük. A vizsgálathoz érzéstelenítést nem használtunk. A tesztcsík átnedvesedését öt perccel a behelyezést követően olvastuk le, és a milliméterben mért érték jelentette a vizsgált személy könnytermelését.

Azokat a betegeket, akiknek a Schirmer I teszt értéke nem érte el az 5 mm/5 perc értéket, nem zártuk ki automatikusan a vizsgálatból, amennyiben a nyálmirigy biopszia negatív volt, és anti-Ro(SSA) vagy anti-La(SSB) antitesteket nem lehetett kimutatni.

Könnyfilm felszakadási idő

A fluoreszceinnel átitatott papírcsíkot (Fluorescein Sodium Ophthalmic Strips U.S.P. Bio-Tech Vision Care Ltd. Khatraj, India) az alsó áthajlásba, illetve a tarsális conjunctivához érintettünk. A vizsgált személyeket arra kértük, hogy néhány normál pislogást követően tartsák nyitva a szemüket, majd a réslámpa kobaltkék fénye mellett vizsgáltuk a szemfelszínt. A szem utolsó nyitásától az első száraz folt megjelenéséig eltelt időt stopperórával mértük, és a kapott másodpercben mért értéket, mint a szemfelszín integritását jelző adatot feljegyeztük. Három mérés átlagát használtuk a statisztikai számításokhoz.

**4.3.2. Konfokális corneamikroszkópia**

A vizsgálatba bevont személyek mindkét szemén a berendezés és a vizsgálati protokoll részletes ismertetése után konfokális corneamikroszkóppal (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Modul Heidelberg Eye Explorer version 1.5.10.0 – HRT II RCM – Heidelberg Engineering Inc., Heidelberg, Germany) végeztük a cornea vizsgálatát. A készülék koherens, nagy intenzitású, 670 nm hullámhosszúságú vörös fényű, Helium-Neon dióda lézerforrást használ a konfokális leképezés alapelveinek megfelelően. A kétdimenziós képek felbontása a 400x400 µm-es területű optikai szeletben 384x384 pixel. A HRT-RCM rendszer másodpercenként 30 kép készítésére alkalmas, nagyítási képessége kb. 800x, felbontása horizontálisan 1-2 µm, vertikálisan 8-10 µm. A vizsgálófejet egy egyszer használatos védőkupak (TomoCap, Heidelberg, Germany) választja el a vizsgált felszíntől.

Adatgyűjtés, a vizsgálat menete

A vizsgált személyeknél a szemfelszíni anesztézia megteremtéséhez a jobb szembe egy csepp Humacain szemcseppet (Oxybuprocaine-Humacain 0,4%, Human Pharmaceuticals, Gödöllő) alkalmaztunk. A vizsgálófejet egy steril csomagolású műanyag védősapka borította (TomoCap), mely a vizsgálat alatt végig a szemfelszínnel kontaktusban volt. A vizsgálófej és a védősapka között kontaktanyagként carbomer gélt (Vidisic, Dr.Mann Pharma, Berlin, Germany) használtunk. A szemek helyes pozicionálását a kontralaterális szem jelzőfényvel történő irányítása segítette.

A berendezés egy mozgatható oldalsó kamerával van felszerelve, mely a vizsgált szemek helyes pozicionálását segítette. Méréseinket a szaruhártya két meghatározott helyén, a centrumban, illetve VI ó-nál, a limbusközeli periférián végeztük. A vizsgálat kivitelezése során a szaruhártya felszínétől, a felszínes epithelsejtek rétegétől kezdődően egészen az endothelium sejtrétegig minden egyes rétegről 20-20 képet készítettünk. A mélységállítást a Rostock Cornea Modul fejbe épített mikrométer csavar segítségével végeztük. A képek rögzítése lábpedál segítségével történt. A képek felvétele során a számítógép monitorán a rögzített képek láthatóak, így a bemozdult, életlen képek azonnal törölhetőek. A konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálat kb. 3 percig tartott, és a betegek nem tartották megterhelőnek. Mind a betegcsoportban, mind a kontrollcsoportban a jobb szem vizsgálatával nyert 5-5 legjobb minőségű kép adatainak átlagait értékeltük. Antibiotikus szemcsepp adására nem volt szükség, a vizsgált személyeknél szemgyulladás a vizsgálatot követően nem fordult elő.

#### *A szaruhártya intermedier-, vagy szárnyas sejtjeinek vizsgálata*

A cornea szárnyas sejtjei a felszínes desquamatio előtt álló laphámsejtek alatt helyezkednek el. Nevüket esernyőszerű alakjukról kapták. A sejtmagjuk konfokális mikroszkópiával vizsgálva hyperreflektív, kerek vagy ovális alakú területként ábrázolódik, azonban legtöbb esetben csak az optikailag üres, tehát hyporeflektív cytoplazma és a fokozotabban reflektív sejtfal látható.

#### *A szaruhártya Langerhans-sejtjeinek vizsgálata*

A szaruhártya immunkompetens sejtjeinek családjába tartozó LS-ek felismerése gyakorlatot igényel. A lokalizáció és a sejtek speciális megjelenési formái azonban segítséget jelenthetnek a sejtek azonosításában. A LS-ek érettségük függvényében nyúlványokkal rendelkeznek, melyek a képnyszerűségi speciális volta miatt (optikai szelektálás) azonban gyakran nem teljes nagyságukkal vannak jelen az optikai szelektálásban, így osztályozásuk nehézségeket jelenthet. Képelemzéseink során azt az irányelvet követtük, hogy az adott optikai szelektálásban a vágási metszésektől függetlenül a látott sejthalak osztályozását végezzük, hiszen a kiválasztott 5 legjobb minőségű kép átlagolásával a hiba elhanyagolható mértékű.

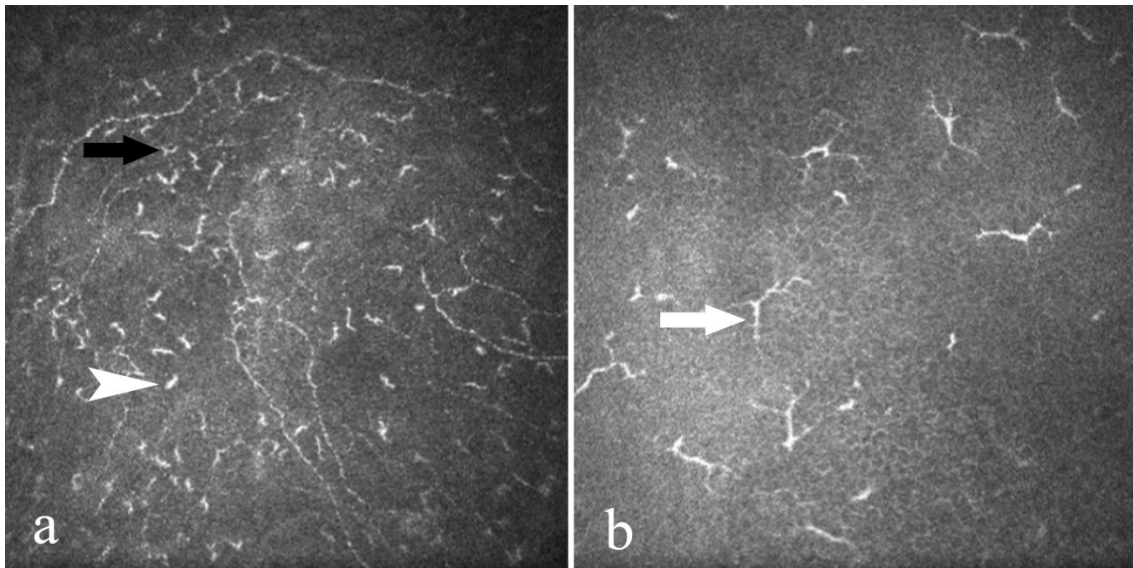
A statisztikai számításokhoz 5 jellemző kép átlagait használtuk. Az irodalmi adatoknak megfelelően vizsgálatunkban az LS-ek a cornea szubbazális idegrost rétegének magasságában, a szaruhártya felszínétől kb. 40-60  $\mu\text{m}$  távolságban helyezkedtek el.

### Sejtszámolás

A korábban leírtaknak megfelelően a kiválasztott képeket két független vizsgáló elemezte. A különböző sejtek azonosítása és számolása a két vizsgáló személy közötti megegyezés alapján történt. A vizsgálók közötti megegyezés vizsgálatára rövid pilot jellegű tanulmányt végeztünk. A két vizsgáló között nem volt különbség a sejtek felismerésének tekintetében. A képek vizsgálata maszkolt módon történt. A konfokális corneamikroszkóp számítógépes rendszere olyan szoftverrel van ellátva, hogy a kiválasztott és digitálisan tárolt képek elemzése szemiautomatikus módon történik (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Modul Heidelberg Eye Explorer version 1.5.10.0 – HRT II RCM – Heidelberg Engineering Inc., Heidelberg, Germany). A sejtszámlálás segítésére egy számolókeret áll rendelkezésre, amelyben a sejtek megjelölhetők, és a berendezés automatikusan sejtsűrűséget számol. A számolókeret nagysága kézi irányítással változtatható, és mérete a számolás pontosságával összefügg. A számolókeret méretének kiválasztása minden esetben a gyártó ajánlásainak megfelelően történt. A számolókeret szélén lévő sejtek sok esetben átmetszésre kerültek, így a számlálandó sejtek beválogatását a következőképpen végeztük. A számolókeret két érintkező oldala mentén a kereten belül részlegesen elhelyezkedő sejtek is számolásra kerültek, míg az ellentétes érintkező oldalak esetében a metszett sejteket kizártuk. A sejtszámoló keretet csak a corneális hámsejtek sűrűségének vizsgálatához használtunk. Az LS-ek számolása a teljes képméretben (400x400  $\mu\text{m}$ ) történt.



Az LS-ek morfológiai (LSM) vizsgálatát a Zhivov által lefektetett osztályozást alapul véve végeztük(52). Eszerint a nyúlvány nélküli, kis és kiterjedt dendrittel bíró formákat 1-től 3-ig osztályoztuk. A besoroláshoz a dendrit hosszát a hozzátartozó sejtestest legnagyobb átmérőjéhez viszonyítottuk. Amennyiben az annál hosszabb volt, a kiterjedt dendrittel bíró csoportba került besorolásra. Az LS-ek osztályozása: 1: dendrit nélküli LS, 2: a dendrit hossza nem haladja meg az LS testének átmérőjét (11/a ábra), 3: a dendrit hossza nagyobb, mint az LS testének leghosszabb látható átmérője (11/b ábra).



### 11. ábra Corneális Langerhans-sejtek konfokális corneamikroszkópiás képe

Az eltérő nyilak különböző érettségű és különböző aktiváltsággal rendelkező LS-eket jeleznek. A fehér nyílhegy egy LSM 1, a fekete nyíl egy LSM 2 és a fehér nyíl egy LSM 3 értékű LS-re mutat (*saját anyag*).

#### 4.4. Statisztikai módszerek

Az RA-betegek és a kontrollcsoport, illetve a RA-alcsoportok összehasonlításánál a Cochran-Armitage trend tesztet használtuk az ordinális változók (LIPCOF és LSM) esetében. A folyamatos változók összehasonlítása esetében t-tesztet alkalmaztunk. A tesztek elvégzése előtt a változók eloszlását grafikus módszerrel ellenőriztük, és amennyiben szükséges volt, Box-Cox transzformációt végeztünk. Ennek a módszernek a segítségével stabilizálható az adatok varianciája, a transzformációt követően az eloszlás jobban közelít a normál eloszláshoz.

Az AS- és SLE-betegek és a kontrollcsoport összehasonlításánál az ordinális változók esetében non-parametrikus Mann-Whitney tesztet használtunk, hiszen a vizsgált minta nem-normál eloszlást mutatott az előzetesen elvégzett Kolmogorov-Smirnov próbák alapján. Az AS-alcsoportok és a kontrollcsoport összehasonlításához a kettőnél több csoport együttes összehasonlítására szolgáló, szintén non-parametrikus Kruskal-Wallis tesztet használtuk. Az SLE-beteg- és a kontrollcsoportban a centrális és perifériás LS-ek összehasonlításához Wilcoxon tesztet alkalmaztunk. Fisher egzakt tesztet végeztünk az SLE- és kontrollcsoport összehasonlításához az életkor és az LS-ek corneális jelenlétének vonatkozásában.

A glaukómás betegcsoport és a kontrollcsoport között, valamint a glaukómás alcsoportok között szintén non-parametrikus Mann-Whitney tesztet használtunk. A lehetséges összefüggések vizsgálatát Spearman korrelációs teszt segítségével végeztük.

Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük az eredményt, ha  $p < 0,05$ . Az eredmények értékeléséhez a STATISTICA version 8.0-át (StatSoft, Tulsa, OK, USA) használtuk.

## **5. Eredmények**

### **5.1. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek vizsgálata reumatoid arthritisen**

#### **5.1.1. Száraz szem paraméterek**

Az OSDI-érték az RA-betegcsoportban szignifikánsan nagyobb volt, mint az egészséges csoportban. A betegség aktivitás és a terápia alapján képzett alcsoportok között nem találtunk szignifikáns különbséget a szubjektív száraz szem panaszok tekintetében. A szemhéjszélel párhuzamos kötőhártyaredők és a könnytermelés tekintetében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést a beteg- és a kontrollcsoport között. A betegség aktivitása és az alkalmazott kezelés szintén nem befolyásolta lényegesen a LIPCOF- és Schirmer-értékeket. Kiemelendő azonban, hogy azoknál a betegeknél, akik adjuváns kezelésként glükokortikoszteroid terápiaiban részesültek, a kontrollhoz képest alacsonyabb könnytermelést tapasztaltunk ( $p=0,034$ ). A könnytermelés és a könnyfilm stabilitásában a két vizsgált csoportban nem volt szignifikáns különbség, habár a TBUT-értékek a betegcsoportban konzekvensen alacsonyabbnak mutatkoztak, mint az egészséges csoportban (9. táblázat).

**9. táblázat A száraz szem paraméterek a kontroll- és RA-betegek csoportjaiban**  
*DAS-28 – betegség aktivitási index 28 ízület vizsgálatával. TNF- $\alpha$  – tumor nekrozis faktor alfa. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. Statisztikai elemzés: Cochran-Armitage trend teszt és t-teszt (Box-Cox transzformációval).*

Kísérleti csoport	OSDI	LIPCOF	Schirmer (5 min/mm)	TBUT (s)
Egészséges egyének (n=24)	11,71 $\pm$ 8,73	1,29 $\pm$ 0,55	11,96 $\pm$ 3,14	11,04 $\pm$ 3,32
RA-betegek (n=52)	24,46 $\pm$ 17,50*	1,35 $\pm$ 0,68	9,74 $\pm$ 7,41	9,28 $\pm$ 3,86
p érték:	p=0,002	p=0,574	p=0,065	p=0,057
<u>RA-betegek a DAS-28 pontjaik alapján</u>				
$\leq 2,6$ (53,8%)	25,83 $\pm$ 18,66*	1,36 $\pm$ 0,68	10,23 $\pm$ 5,72	9,41 $\pm$ 3,50
$> 2,6$ (46,2%)	22,87 $\pm$ 16,30	1,33 $\pm$ 0,70	9,17 $\pm$ 9,09	9,13 $\pm$ 4,32
p érték:	p=0,134	p=0,324	p=0,102	p=0,435
<u>RA-betegek anti-TNF-<math>\alpha</math> terápia alapján</u>				
Igen (44,2%)	28,28 $\pm$ 19,11*	1,26 $\pm$ 0,62	9,63 $\pm$ 5,98	8,80 $\pm$ 3,54
Nem (55,8%)	21,44 $\pm$ 15,79	1,41 $\pm$ 0,73	9,83 $\pm$ 8,48	9,66 $\pm$ 4,12
p érték:	p=0,204	p=0,128	p=0,502	p=0,315
<u>RA-betegek glükokortikoszteroid terápia alapján</u>				
Igen (34,6%)	23,63 $\pm$ 15,83	1,39 $\pm$ 0,78	7,50 $\pm$ 5,50*	8,83 $\pm$ 3,78
Nem (65,4%)	24,90 $\pm$ 18,54*	1,32 $\pm$ 0,64	10,93 $\pm$ 8,06	9,52 $\pm$ 3,94
p érték:	p=0,571	p=0,226	p=0,074	p=0,215

### 5.1.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálata

#### Rövid, pilot jellegű tanulmány

A vizsgált csoportokban biomikroszkópos módszerrel gyulladást nem tapasztaltunk. A két RA-betegcsoport DAS-28 értékében szignifikáns különbség nem mutatkozott ( $p=0,24$ ). Az RA-betegcsoportban az átlagos LS-sűrűség a centrumban szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban. További vizsgálatok kimutatták, hogy a biológiai terápiában részesülő RA(b) betegcsoportban a centrális LS-sűrűség szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban ( $p=0,019$ ), míg a hagyományos DMARD-kezelésen lévő betegek (RA(k) csoport) és a kontrollcsoport között nem volt ebben a változóban különbség ( $p=0,202$ ). A RA- és a kontrollcsoport között szignifikáns különbség mutatkozott a centrális LSM tekintetében is: az RA-csoportban 57%-ban találoztunk aktivált LS-ekkel a szaruhártya centrális területén, szemben a kontrollcsoportban tapasztalt 22%-os aránnyal. A LS-ek aktiváltságának további vizsgálatok az RA(b)-betegcsoport és a kontrollcsoport között a centrális LSM vizsgálatok szignifikáns különbséget tapasztaltunk ( $p=0,03$ ).

Korrelációs vizsgálatokat végeztünk, és azt találtuk, hogy a kontroll- és az RA-csoportban szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott a centrális LS és a periféris LS szám között ( $r=0,583$ ,  $r=0,727$ ,  $p<0,05$ ), a centrális LS és a centrális LSM között ( $r=0,747$ ,  $r=0,663$ ,  $p<0,05$ ), valamint a periféris LS és a centrális LSM között ( $r=0,494$ ,  $r=0,555$ ,  $p<0,05$ ). Az RA-csoportban ezen felül szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott a centrális és a periféris LSM között ( $r=0,563$ ,  $p<0,05$ ). Az életkor ( $r=-0,116$ ,  $p>0,05$ ), a betegségben eltöltött évek ( $r=0,083$ ,  $p>0,05$ ), a betegség aktivitási érték ( $r=-0,173$ ,  $p>0,05$ ) és a centrális LS-ek között korrelációt nem tapasztaltunk. Eredményeinket részleteiben a 10. táblázat foglalja össze.

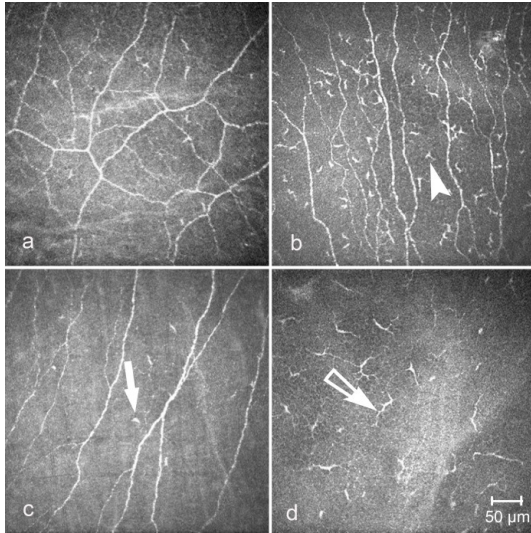
**10. táblázat A LS-ek átlagos sűrűsége és morfológiája kontrollcsoportban és RA-betegekben** RA(b) – biológiai terápiában részesült RA-betegek. RA(k) – konvencionális (DMARD – betegségmódosító antireumás gyógyszer) kezelésben részesülő RA-betegek. \* $p < 0,05$  v. kontroll. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.

Csoportok	LS centr. sejt/mm <sup>2</sup>	LS perif. sejt/mm <sup>2</sup>	LSM centr.	LSM perif.
Kontroll (n=18)	26,84 $\pm$ 39,47	66,75 $\pm$ 34,42	0,77 $\pm$ 0,9	2,33 $\pm$ 0,48
RA (n=22)	57,98 $\pm$ 63,48*	116,4 $\pm$ 98,73	1,59 $\pm$ 0,9*	2,5 $\pm$ 0,74
p érték:	p=0,041	p=0,165	p=0,008	p=0,162
<i>RA betegek az alkalmazott terápiaik szerint</i>				
RA(b) (n=8)	78,56 $\pm$ 83,05*	101,93 $\pm$ 53,9	1,65 $\pm$ 0,51*	2,75 $\pm$ 0,46
RA(k) (n=14)	46,22 $\pm$ 49,47	124,66 $\pm$ 118	1,57 $\pm$ 1,08	2,35 $\pm$ 0,84
p érték:	p=0,374	p=0,784	p=0,987	p=0,236

Nagyobb RA-populáción végzett vizsgálat

A LS-ek száma mindkét vizsgált cornea területen nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban (12. ábra). A LS-ek száma mellett a LS-ek érettségét jellemző LSM-értékek a cornea centrumában szintén szignifikánsan nagyobbak voltak az RA-betegcsoportban, mint a kontrollcsoportban (12/b,c ábra).

A kapott eredményeket további vizsgálatnak vetettük alá. Alcsoportokat hoztunk létre annak tisztázására, hogy a betegség aktivitása és az alkalmazott kezelés milyen összefüggést mutat az általunk vizsgált paraméterekkel. Érdekes eredmény, hogy a kontrollhoz viszonyítva azokban az egyéneknél is magasabb LS-sűrűséget tapasztaltunk, akik klinikai értelemben remisszióban voltak, és alacsonyabb betegség aktivitási értékekkel rendelkeztek (<2,6 DAS-28  $p=0,002$ ).



**12. ábra** A cornea jellegzetes konfokális mikroszkópiás képe a kontroll- (a,c) és az RA-betegcsoportban (b,d) A kontrollcsoportban a centrális cornea területén (a) LS nem ábrázolódik, míg az RA-ban számos aktivált LS látható (b) (teli nyílhegy egy LSM 2 aktiváltságú LS-re mutat). A periférián a kontrollcsoportban 1-1 nyúlvánnyal nem rendelkező LS látható (c) (teli nyíl egy LSM 1 LS-re mutat), ezzel szemben az RA-ban a hosszú dendrittel rendelkező, érett LS-ek (üres nyíl egy LSM 3 LS-re mutat) jelenléte dominál (d) (saját anyag) (144).

További érdekesség, hogy a szisztémás betegség aktivitás fokozódását nem kísérte fokozott LS-szám emelkedés a cornea egyik vizsgált területén sem. A TNF- $\alpha$  gátló kezelés alkalmazása az általunk vizsgált paraméterek tekintetében nem okozott változást, ám azon betegek esetében, akik methyl-prednisolon kezelésben részesültek, alacsonyabb LS-sűrűséget mértünk a perifériás cornea területeken, mely a methyl-prednisolon erőteljes immunszuppresszáns hatását támogatja. Az LS érettségét leíró LSM-értékben a methyl-prednisolon kezelés mellett ilyen eltérést nem tapasztaltunk.

Korrelációs vizsgálattal összefüggést találtunk a methyl-prednisolon kezelésben részesült betegek könnytermelése és a perifériás LS denzitás között ( $r=0,603$ ,  $p<0,05$ ), azonban ezt a hatást a kezelés erőteljesen befolyásolhatta, és ilyen összefüggést az egyéb csoportok vizsgálata során igazolni nem tudtunk. A konfokális mikroszkópiás vizsgálat során kapott eredményeinket a 11. táblázat foglalja össze.

**11. táblázat** Az RA- és a kontrollcsoportban mért átlagos LS-sűrűség és morfológiai eredményeink DMARD – betegségmódosító antireumás gyógyszer. DAS-28 – betegség aktivitási index 28 ízület vizsgálatával. TNF- $\alpha$  – tumor nekrozis faktor alfa. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. # $p < 0,05$  vs. a vonatkozó alcsoportba tartozó RA-betegek. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve. Statisztikai elemzés: Cochran-Armitage trend teszt és t-teszt (Box-Cox transzformációval).

Kísérleti csoportok	LS centr. (sejt/mm <sup>2</sup> )	LS perif. (sejt/mm <sup>2</sup> )	LSM centr.	LSM perif.
Kontroll (n=24)	23,85 $\pm$ 33,81	69,29 $\pm$ 33,26	0,96 $\pm$ 0,75	2,42 $\pm$ 0,50
RA-betegek (n=52)	68,15 $\pm$ 71,27*	126,8 $\pm$ 104,6*	1,54 $\pm$ 0,78*	2,60 $\pm$ 0,60
p érték:	p=0,0005	p=0,0044	p=0,0026	p=0,096
<u>RA-betegek a DAS-28 pontjaik alapján</u>				
$\leq 2,6$ (53,8%)	63,13 $\pm$ 66,20*	134,3 $\pm$ 121,5*	1,50 $\pm$ 0,75*	2,68 $\pm$ 0,48
$> 2,6$ (46,2%)	74,01 $\pm$ 77,80*	117,9 $\pm$ 82,15	1,58 $\pm$ 0,83*	2,50 $\pm$ 0,72
p érték:	p=0,131	p=0,276	p=0,101	p=0,179
<u>RA-betegek anti-TNF-<math>\alpha</math> terápia alapján</u>				
Igen (44,2%)	69,22 $\pm$ 69,61*	124,8 $\pm$ 117,2*	1,48 $\pm$ 0,67	2,65 $\pm$ 0,49
Nem (55,8%)	67,30 $\pm$ 73,78	128,3 $\pm$ 95,43*	1,59 $\pm$ 0,87*	2,55 $\pm$ 0,69
p érték:	p=0,401	p=0,298	p=0,175	p=0,314
<u>RA-betegek glükokortikoszteroid terápia alapján</u>				
Igen (34,6%)	37,37 $\pm$ 31,16	86,70 $\pm$ 47,16	1,50 $\pm$ 0,92	2,56 $\pm$ 0,78
Nem (65,4%)	84,45 $\pm$ 80,99*	148,0 $\pm$ 120,0 <sup>#</sup> *	1,56 $\pm$ 0,70*	2,62 $\pm$ 0,49
p érték:	p=0,057	p=0,049	p=0,176	p=0,185



## **5.2. A szemszárazság és a Langerhans-sejtek spondylitis ankylopoeticában**

### **5.2.1. Száraz szem paraméterek**

Az AS-betegcsoportban az OSDI-érték szignifikánsan magasabb volt a betegcsoportban a kontrollcsoporthoz viszonyítva. A LIPCOF-értékek tekintetében és a könnyfilm stabilitásának szempontjából a kontroll és az AS-betegcsoport összemérhető volt. A könnytermelés azonban szignifikánsan alacsonyabb volt a betegcsoportban, mint a kontrollcsoportban.

A betegség aktivitását leíró BASDAI alapján két alcsoportot hoztunk létre. Azokban a betegekben, akiknél a betegség aktivitása magasabb volt, szignifikánsan alacsonyabb könnytermelési értékeket regisztráltunk a kontrollcsoporthoz viszonyítva ( $p=0,024$ ). A CRP-értékek alapján képzett alcsoportok összehasonlítása azt mutatta, hogy az emelkedett CRP – tehát emelkedett szisztémás gyulladás – a könnytermelés drámai csökkenésével jár. Az összefüggés további vizsgálatát végeztük, és statisztikailagszignifikáns korrelációt találtunk a CRP-értékek és a könnytermelés között ( $r=-0,74$   $p<0,05$ ).

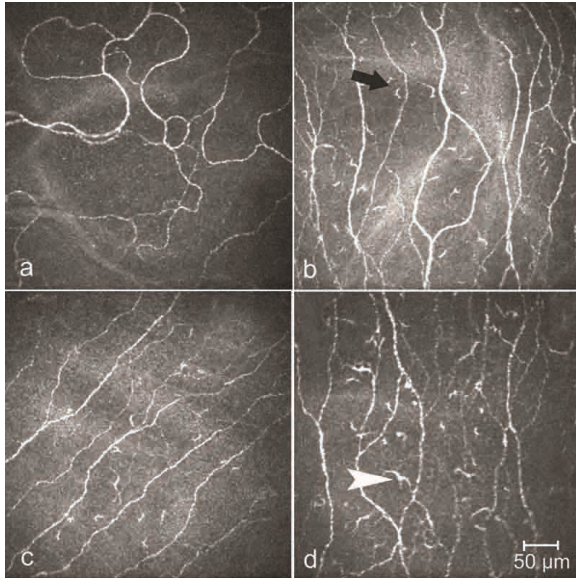
Az OSDI-érték a kontrollhoz képest magasabb volt a HLA-B27 pozitív betegek esetében ( $p<0,01$ ). A HLA-B27 génvariánst hordozó, és a génnel nem rendelkező betegek összehasonlításakor nem tapasztaltunk különbséget a vizsgált száraz szem paraméterek vonatkozásában. A szemészeti anamnézisben szereplő korábbi uveitis szintén nem okozott számottevő változást az általunk vizsgált paraméterek tekintetében. A száraz szem vizsgálatával kapcsolatos eredményeinket a 12. táblázatban foglaltuk össze.

**12. táblázat A száraz szem paraméterek a kontroll- és az AS-betegek csoportjaiban** BASDAI – Bath ankylosing spondylitis betegség aktivitási index. CRP – C-reaktív protein. HLA-B27 – humán leukocita antigén B27. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. \*\* $p < 0,05$  vs. CRP  $\leq 5$  mmol/l. Az adatok mediánban vannak kifejezve a hozzájuk tartozó interkvartilis tartománnyal. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney, valamint Kruskal-Wallis teszt.

Kísérleti csoport	OSDI	LIPCOF	Schirmer (mm/5p.)	TBUT (s)
Kontroll (n=24)	6,80 [4,20-12,23]	1,00 [1,00-1,00]	14,00 [12,00-15,00]	13,00 [11,0-14,00]
AS-betegek (n=24)	20,80* [10,40-38,59]	1,00 [1,00-1,00]	5,50* [1,00-15,75]	12,00 [7,50-15,00]
p érték:	p=0,001	p=0,456	p=0,047	p=0,474
<u>AS-betegek BASDAI-érték alapján</u>				
$\leq 4$ (71%)	20,80* [10,40-33,71]	1,00 [0,00-1,00]	12,00 [1,00-17,50]	12,00 [11,0-15,00]
$> 4$ (29%)	31,30* [6,25-45,50]	1,00 [1,00-2,00]	2,00* [1,00-7,00]	9,00 [6,00-15,00]
p érték:	p=0,473	p=0,854	p=0,051	p=0,352
<u>AS-betegek CRP-érték alapján</u>				
$\leq 5$ (33%)	19,78 [10,93-24,43]	0,50 [0,00-1,00]	16,00 [13,50-22,00]	14,00 [11,25-21,0]
$> 5$ (67%)	27,07* [10,40-45,06]	1,00 [1,00-1,00]	1,00** [1,00-5,75]	11,00 [6,25-14,50]
p érték:	p=0,384	p=0,096	p<0,01	p=0,734
<u>AS-betegek HLA-B27 pozitívítás alapján</u>				
Pozitív (50%)	27,00*[14,06-42,65]	1,00 [1,00-1,00]	9,00 [1,00-16,50]	12,00 [8,00-16,00]
Negatív (50%)	15,60[3,12-36,32]	1,00 [0,25-1,75]	4,00 [1,00-15,00]	12,00 [7,50-15,00]
p érték:	p=0,154	p=0,634	p=0,116	p=0,563
<u>AS-betegek uveitis kórelőzménnyel</u>				
Igen (29%)	31,30* [10,40-54,12]	1,00 [1,00-1,00]	13,00 [1,00-18,00]	12,00 [9,00-22,00]
Nem (71%)	20,80* [10,40-37,09]	1,00 [0,50-1,50]	2,00 [1,00-15,00]	12,00 [7,00-15,00]
p érték:	p=0,317	p=0,634	p=0,116	p=0,758

### 5.2.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópiás vizsgálata

AS-ban az LS-ek száma a cornea mindkét vizsgált területén szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban (13. ábra). A szaruhártya centrumában mért LSM-érték szintén nagyobb volt az AS-betegeknél, mint a kontrollcsoportban (13/a,b ábra).



**13. ábra** A cornea konfokális mikroszkópiás képe a kontroll- (a,c) és az AS-betegcsoportban (b,d) A kontrollcsoportban a cornea centrumában (a) LS nem található, míg AS-ban számos aktivált LS látható (b) (fekete nyíl egy LSM 2 aktiváltságú LS-re mutat). A periférián a kontrollcsoportban néhány rövidebb nyúlvánnyal rendelkező LS látható (c), míg AS-ban a hosszú dendrittel rendelkező, érett LS-ek (teli nyílhegy egy LSM 3 LS-re mutat) jelenléte dominál (d) (saját anyag (4)).

További vizsgálatok megmutatták, hogy a betegség aktivitásának emelkedése nem okozott szignifikáns változást egyik vizsgált paraméter tekintetében sem, azonban a magasabb BASDAI-értékek esetében tendenciózusan magasabb LS-sűrűséget tapasztaltunk a cornea mindkét területén. A lehetséges összefüggés további vizsgálatát végeztük, és pozitív korrelációt találtunk a betegség aktivitása és a perifériás LS-sűrűség között ( $r=0,51$ ,  $p<0,05$ ). A könnytermelés és a centrális LS-szám között korrelációt nem tapasztaltunk ( $r=0,183$   $p>0,05$ ). A perifériás LS-sűrűség és a könnytermelés között gyenge pozitív korrelációt találtunk ( $r=0,391$   $p>0,05$ ). A szisztémás gyulladás, a HLA-B27 antigén vizsgálat és a gyulladásos szemészeti kórelőzmény tekintetében nem

tapasztaltunk eltérést a képzett alcsoportokban. Konfokális mikroszkópiás vizsgálattal kapcsolatos eredményeinket a 13. táblázatban foglaltuk össze.

**13. táblázat Corneális LS eredményeink a kontroll- és az AS-betegcsoportban**  
*BASDAI – Bath ankylosing spondylitis betegség aktivitási index. CRP – C-reaktív protein. HLA-B27 – Humán leukocita antigén B27. \*  $p < 0,05$  vs. kontroll. Az adatok mediánban vannak kifejezve a hozzájuk tartozó interquartilis tartománnyal. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney, valamint Kruskal-Wallis teszt.*

Csoportok	LS centr.(sejt/mm <sup>2</sup> )	LS perif.(sejt/mm <sup>2</sup> )	LSM centr.	LSM perif.
Kontroll (n=24)	14,50 [0,00-35,10]	65,50 [46,75-88,00]	1,00 [0,70-1,00]	2,00 [2,00-3,00]
AS- betegek (n=24)	75,50* [51,18-112,6]	131,0* [80,33-168,4]	2,00* [1,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]
p érték:	p<0,0001	p<0,0001	p=0,0003	p=0,118
<u>AS-betegek a BASDAI-érték szerint</u>				
≤4 (71%)	69,30* [45,70-104,0]	108,0* [78,75-137,4]	2,00* [1,00-2,00]	2,00 [2,00-3,00]
>4 (29%)	92,50* [56,50-113,0]	170,0* [135,5-204,0]	1,00 [1,00-2,00]	3,00 [3,00-3,00]
p érték:	p=0,821	p=0,628	p=0,498	p=0,468
<u>AS-betegek a CRP-érték szerint</u>				
≤5 (33%)	66,15* [43,85-107,5]	136,2* [93,60-197,8]	1,50 [1,00-2,00]	2,50 [2,00-3,00]
>5 (67%)	79,25* [56,95-115,6]	121,4* [79,63-157,2]	2,00* [1,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]
p érték:	p=0,534	p=0,492	p=0,723	p=0,251
<u>AS-betegek HLA-B27 pozitívítás alapján</u>				
Pozitív (50%)	75,50* [59,48-107,9]	140,5* [88,95-197,8]	2,00* [1,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]
Negatív (50%)	74,65* [43,85-117,7]	98,40* [79,63-136,6]	1,50* [1,00-2,00]	2,50 [2,00-3,00]
p érték:	p=0,729	p=0,423	p=0,284	p=0,342
<u>AS-betegek uveitis kórelőzménnyel</u>				
Igen (29%)	111,2* [72,00-129,7]	143,3* [109,8-204,0]	2,00* [2,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]
Nem (71%)	60,30* [34,65-91,75]	108,0* [79,75-153,9]	1,00* [1,00-2,00]	3,00 [2,00-3,00]
p érték:	p=0,411	p=0,310	p=0,498	p=0,756

### **5.3. A szemszárazság és Langerhans-sejtek szisztémás lupus erythematosusban**

#### **5.3.1. Száraz szem paraméterek**

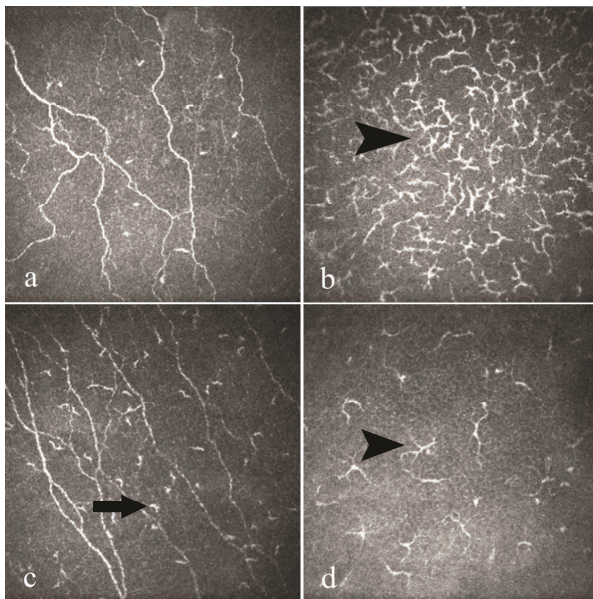
Szignifikáns különbséget tapasztaltunk a beteg- és a kontrollcsoport között az OSDI, a könnytermelés és a könnyfilm stabilitását mérő TBUT-értékekben. A betegcsoportban az OSDI-érték magasabb, míg a Schirmer- és a TBUT-érték alacsonyabb volt, mint a kontrollcsoportban. Ez egyértelműen jelezte, hogy a vizsgálatainkba bevont SLE-ben szenvedő betegek száraz szem betegséggel küzdenek másodlagos Sjögren-szindróma hiányában is. Az alcsoportok vizsgálata megmutatta, hogy még a komplett remisszióban lévő betegek esetén is a TBUT patológiásan alacsony volt, és a betegség aktivitásának fokozódásával a TBUT-érték mellett a szubjektív panaszok tovább erősödtek, és a könnytermelés romlott a kontrollcsoportéhoz képest. Magas betegség aktivitás mellett a könnytermelés kifejezetten alacsony volt és a különbség a kontrollban tapasztalt értékekhez mérten szignifikánsnak bizonyult. A 14. táblázat a száraz szem vizsgálatával nyert eredményeinket foglalja össze a kontroll- és az SLE-betegcsoportban.

**14. táblázat A száraz szem vizsgálati eredményeink a kontroll- és az SLE-betegcsoportban** CRP – C-reaktív protein, SLE – szisztémás lupus erythematosus. SLEDAI – SLE-betegség aktivitási érték, TBUT – könnyfilm felszakadási idő. OSDI – szemfelszíni betegség index. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve a minimum és maximum értékekkel együtt. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.

Csoportok	OSDI	LIPCOF	Schirmer (mm/5 min)	TBUT (s)
Kontrollcsoport (n=27)	11,06 $\pm$ 7,18 (0-35)	1,24 $\pm$ 0,54 (0-3)	11,67 $\pm$ 3,21 (6-16)	11,09 $\pm$ 3,37 (5-16)
SLE-betegek (n=27)	25,95 $\pm$ 17,92* (4,5-7,4)	1,36 $\pm$ 0,62 (0-3)	8,45 $\pm$ 9,82* (2-40)	6,86 $\pm$ 3,53* (2-15)
p érték:	p<0,0001	p=0,169	p=0,003	p=0,0001
<i>SLE-betegek a SLEDAI szerint</i>				
0 (29%)	16,82 $\pm$ 11,91 (4,54-35,71)	1,37 $\pm$ 0,74 (0-2)	7,62 $\pm$ 7,34 (0,5-20)	5,12 $\pm$ 1,55* (3-8)
1-8 (60%)	29,64 $\pm$ 20,15* (9,09-70,45)	1,29 $\pm$ 0,58 (1-3)	9,86 $\pm$ 11,11 (0,2-40)	8,23 $\pm$ 3,78* (3-15)
>8 (11%)	29,37 $\pm$ 11,06* (16,6-36,1)	1,66 $\pm$ 0,57 (1-2)	2,16 $\pm$ 0,76* (1,5-3,0)	3,66 $\pm$ 1,52* (2-5)
p érték összes:	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
<i>SLE-betegek a CRP (mg/L) értékek szerint</i>				
$\leq$ 5 (33%)	16,49 $\pm$ 10,52 (4,54-35,4)	1,57 $\pm$ 0,97 (0-3)	5,64 $\pm$ 5,08* (1-15)	5,28 $\pm$ 2,49* (2-10)
>5 (67%)	29,10 $\pm$ 18,93* (5,55-70,45)	1,28 $\pm$ 0,46 (1-2)	9,31 $\pm$ 10,68* (0,2-40)	7,38 $\pm$ 3,72* (3-15)
p érték:	p=0,135	p=0,684	p=0,865	p=0,374

### 5.3.2. A corneális Langerhans-sejtek konfokális mikroszkópiás vizsgálata

A centrális corneális LS-sűrűség a betegcsoportban szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban (14/a,b ábra). Amíg a kontrollcsoportban csak nyolc esetben (29,6%) találtunk LS-eket a szaruhártya centrumában, addig az LS-ek a betegcsoportban a cornea centrumában és a periférián is minden esetben kimutathatóak voltak. A LSM-érték szintén magasabb volt a betegcsoportban, mint a kontrollban (14/b,d ábra).



**14. ábra** A cornea konfokális mikroszkópiás képe a kontroll- (a,c) és az SLE-betegcsoportban (b,d). A kontrollcsoportban a cornea centrumában éretlen LS-ek láthatóak (a). SLE-ben a cornea centrumában az aktivált LS-ek extrém sűrűségben is előfordulhatnak (b). A periférián a kontrollcsoportban néhány rövid nyúlvánnyal rendelkező LS látható (c) (fekete nyíl egy LSM 2 aktiváltságú LS-re mutat), míg SLE-ben döntően az LS-ek érett formáival találkozhatunk (d). A fekete nyílhegy 1-1 LSM 3 LS-t jelez (b,d) (saját anyag).

Az alcsoportok analízisével a betegség aktivitása, a szisztémás gyulladás és az LS-ek között kerestünk összefüggést. Kiemelhető, hogy remisszióban és a betegség kifejezett aktivitása (SLEDAI>8) mellett is a kontrollhoz viszonyítva nagyobb LS-számot regisztráltunk a cornea centrumában. Ezen felül emelkedett CRP-értékek (CRP>5 mg/l) mellett a centrális LS-sűrűség a kontrollhoz képest emelkedett volt, míg alacsonyabb CRP-értékek mellett az LS-szám a kontrollal összemérhetőnek bizonyult.



A két SLE-alcsoport között azonban nem találtunk szignifikáns különbséget a vizsgált paraméterekben. A könnytermelés pedig lényegesen nem befolyásolta eredményeinket az LS-sűrűség tekintetében ( $r=0,146$   $p>0,05$ ). Kiemelendő, hogy magas betegség aktivitási értékek mellett (SLEDAI>8) minden periférián elhelyezkedő LS hosszú, helyenként egymással hálózatszerűen rendeződő dendrittel bírt, mely kifejezett aktivitásukat tükrözi.

A centrális és a perifériás LSM-értékek csökkent könnytermelés esetén szignifikánsan nagyobbak voltak a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva, azonban a két SLE-alcsoport között nem volt különbség ezekben a változóknak. A konfokális mikroszkópiával nyert eredményeinket foglalja össze a 15. táblázat.

**15. táblázat- Corneális LS vizsgálati eredményeink a kontroll- és az SLE-betegcsoportban** CRP – C-reaktív protein, SLE – szisztémás lupus erythematosus (Systemic lupus erythematosus), SLEDAI – SLE betegség aktivitási érték. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve a minimum és maximum értékekkel együtt. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. Statisztikai elemzés: Wilcoxon teszt.

Csoportok	LS centr. (sejt/mm <sup>2</sup> )	LS perif. (sejt/mm <sup>2</sup> )	LSM centr.	LSM perif.
Kontroll (n=27)	20,57 $\pm$ 21,04 (0-71)	78,00 $\pm$ 39,51 (26-223)	1,00 $\pm$ 0,69 (0-3)	2,35 $\pm$ 0,54 (0-3)
SLE-betegek (n=27)	43,08 $\pm$ 48,67* (1-169)	124,78 $\pm$ 165,39 (19-914)	1,43 $\pm$ 0,79* (0-3)	2,89 $\pm$ 0,42* (0-3)
p érték:	p=0,027	p=0,213	p=0,012	p=0,004
<i>SLE-betegek a SLEDAI-érték szerint</i>				
0 (29%)	45,84 $\pm$ 43,1* (1,8-125)	195,1 $\pm$ 292,9 (38,7-914)	1,63 $\pm$ 0,91 (1-3)	2,87 $\pm$ 0,35* (2-3)
1-8 (60%)	41,26 $\pm$ 49,35 (2-169)	90,19 $\pm$ 64,76 (19-277)	1,41 $\pm$ 0,71* (0-3)	2,88 $\pm$ 0,48* (1-3)
>8 (11%)	46,10 $\pm$ 76,99* (1-135)	133,20 $\pm$ 73,44 (48-179)	1,00 $\pm$ 1,00 (0-2)	3,00 $\pm$ 0,00* (3-3)
p érték összes:	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
<i>SLE-betegek a CRP (mg/L) értékek szerint</i>				
$\leq 5$ (75%)	39,96 $\pm$ 50,20 (1,8-169)	135,6 $\pm$ 188,90 (19,8-914)	1,571 $\pm$ 0,81* (0-3)	2,86 $\pm$ 0,48* (1-3)
>5 (25%)	52,43 $\pm$ 46,03* (1-135)	92,31 $\pm$ 50,09 (35-171)	1,00 $\pm$ 0,57 (0-2)	3,00 $\pm$ 0,00* (3-3)
p érték:	p=0,289	p=0,174	p=0,642	p=0,491
<i>SLE-betegek a Shirmer teszt eredményei szerint (mm/5 min)</i>				
<10 (61%)	42,03 $\pm$ 42,62 (1-135)	147,37 $\pm$ 204,04 (35-914)	1,58 $\pm$ 0,87* (0-3)	2,91 $\pm$ 0,24* (2-3)
$\geq 10$ (39%)	44,68 $\pm$ 59,01* (1,8-169)	89,85 $\pm$ 70,92* (19,8-277,3)	1,18 $\pm$ 0,60 (0-2)	2,81 $\pm$ 0,60* (1-3)
p érték:	p=0,476	p=0,315	p=0,754	p=0,121

## 5.4. A tartósítószer hatása a corneára a glaukóma travoprost kezelésében

### 5.4.1. Száraz szem paraméterek

A betegcsoportban az OSDI-érték szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban. A könnytermelés a betegcsoportban a kontrollhoz viszonyítva csökkent volt. A könnyfilm stabilitásában nem volt különbség a két csoport között. Az alkalmazott tartósítószer alapján képzett alcsoportok vonatkozásában kiemelendő, hogy mind a benzalkónium-klorid, mind pedig a poliquaternium tartalmú travoprost esetében a könnytermelés csökkent volt a kontrollhoz viszonyítva ( $p=0,032$  és  $p=0,046$ ). A két betegcsoport között szignifikáns különbség nem volt kimutatható a vizsgált paraméterek tekintetében, azonban a TravBAK-kal kezelt betegek esetében a könnytermelés csökkenésén kívül a könnyfilm stabilitása is csökkent volt a kontrollhoz viszonyítva ( $p=0,001$  és  $p=0,041$ ). Az OSDI- és LIPCOF-érték pedig magasabb volt, mint a kontrollbetegek esetében ( $p=0,029$  és  $p=0,021$ ). A száraz szem vizsgálatával és az alkalmazott terápia alapján képzett alcsoportok mellett elért eredményeinket a 16. táblázat tartalmazza.

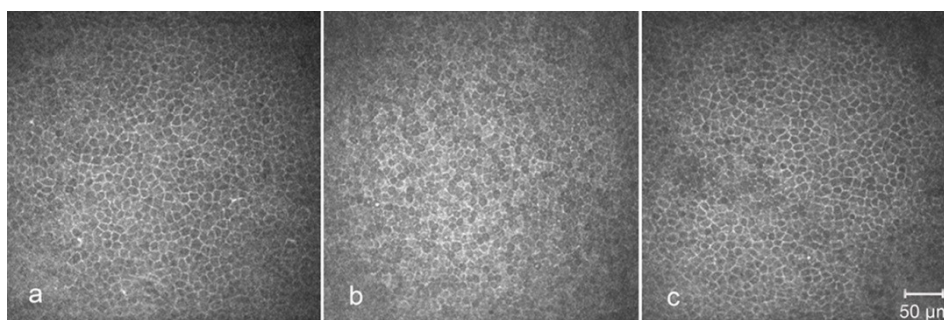
**16. táblázat A száraz szem vizsgálatának eredményei a kontroll és a glaukómás betegcsoportban** *TravBAK – benzalkónium-kloriddal tartósított travoprost. TravPQ – poliquaternium-1 vegyülettel tartósított travoprost. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviació) vannak kifejezve a minimum és maximum értékekkel együtt. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.*

Csoportok	OSDI	LIPCOF	Schirmer [mm/5 min]	TBUT (s)
Kontroll (n=19)	11,7 $\pm$ 6,6 (0-22,9)	1,3 $\pm$ 0,5 (0-3)	12,4 $\pm$ 2,8 (9-15)	12,9 $\pm$ 3,6 (7-16)
Gl. betegek (n=38)	20,2 $\pm$ 15,7* (0-45)	1,7 $\pm$ 0,7 (0-3)	7,8 $\pm$ 4,1* (0-17)	10,3 $\pm$ 4,5 (4-17)
p érték:	p=0,025	p=0,236	p<0,001	p=0,739
<i>Alcsoportok a terápia függvényében</i>				
TravBAK (n=19)	21,6 $\pm$ 19,9* (0-45)	2,05 $\pm$ 0,8* (1-3)	6,3 $\pm$ 5,6* (0-17)	9,3 $\pm$ 3,7* (4-17)
TravPQ (n=19)	18,9 $\pm$ 14,9 (0-50)	1,6 $\pm$ 1,0 (0-3)	9,4 $\pm$ 4,7* (0-17)	11,3 $\pm$ 4,1 (5-17)
p érték:	p=0,413	p=0,156	p=0,051	p=0,140

#### 5.4.2. Konfokális mikroszkópiás vizsgálatok

##### A corneális epithelium vizsgálata

A szárnyas epithelium sejtek vonatkozásában nem volt különbség a beteg- és a kontrollcsoport között. A bazális hámsejtsűrűség a betegcsoportban emelkedett volt a kontrollhoz viszonyítva. További vizsgálatokat végeztünk, és azt találtuk, hogy a TravBAK terápián lévő betegek bazális hámsejtsűrűsége szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontroll-, valamint a TravPQ terápián lévő betegeké, melyet a tartósítószerrel összefüggésbe hozható lokális szemfelszíni stresszhatás következményeként értékeltünk (15/a,b ábra). A TravPQ terápián lévő glaukómás betegcsoport bazális sejtsűrűsége a kontrollcsoport adataival összemérhető volt (15/c ábra).



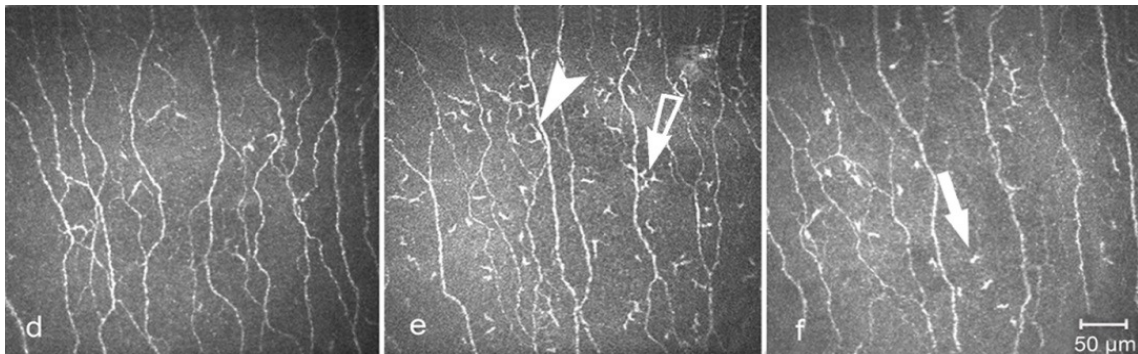
#### 15. ábra A centrális cornea bazális hámsejtjeinek konfokális mikroszkópiás képe

A TravBAK csoportban a hámsejtek kisebbek, sejtsűrűségük nagyobb volt, mint a kontroll- (a) és a TravPQ-csoportban (c)(145) (saját anyag).

##### A corneális LS-ek vizsgálata

A glaukómás betegcsoportban az LS-ek száma mind a két vizsgált cornea területen szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban (16/d,e,f ábra). Nemcsak a sejt szám vonatkozásában, de a sejtek érettségében is különbséget találtunk a két csoport között. A betegcsoportban az LS-ek érett, nyúlvánnyal rendelkező, tehát aktivitást mutató sejtekként ábrázolódtak a cornea centrumában, míg a kontrollcsoportban főként éretlen LS-eket találtunk ezen a területen. A perifériás szaruhártya vizsgálatok az LS-ek főként érett formában ábrázolódtak a betegcsoportban, de nem találtunk különbséget a beteg- és a kontrollcsoport között ebben a változóban.

Az alcsoportok közötti különbségeket vizsgálva kiemelhető, hogy a TravBAK-kal kezelt betegek 95%-ában az LS-ek jelen voltak a cornea centrális területén, és ezen a területen az LS-sűrűség szignifikánsan nagyobb volt, mint a TravPQ-t használó betegek esetében (16/e,f ábra). Az emelkedett sejtszám mellett a sejtek aktivitásában is különbséget észleltünk. A TravPQ-val kezelt betegek centrális LSM-értékei szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkoztak, mint a TravBAK-terápia mellett tapasztalt értékek (16/d,e,f ábra).



**16. ábra A centrális cornea konfokális mikroszkópiás képe a kontroll-és a glaukómás betegcsoportokban** A kontrollcsoportban LS nem látható (d). A fehér nyílhegy egy LSM 3, az üres nyíl egy LSM 2 LS-re mutat a TravBAK-csoportban (e). A fehér nyíl pedig egy LSM 1 LS-t jelez a TravPQ-csoportban (f) (145) saját anyag).

Vizsgálatunkban a száraz szem paraméterek és az LS-ek száma és érettsége között szignifikáns korrelációt nem tudtunk igazolni ( $p > 0,05$ ). A konfokális mikroszkópiával nyert eredményeinket a 17. táblázat tartalmazza.

**17. táblázat Konfokális corneamikroszkóppal elért eredményeink a kontroll- és a glaukómás betegcsoportban TravBAK – benzalkónium-kloriddal tartósított travoprost.**

c. LS – centrális Langerhans-sejt. p. LS – perifériás Langerhans-sejt.  
 c. LSM – centrális Langerhans-sejt morfológia. p. LSM – perifériás Langerhans-sejt morfológia. TravPQ – poliquaternium-1 vegyülettel tartósított travoprost. Az adatok átlag  $\pm$  SD-ben (Standard Deviáció) vannak kifejezve a minimum és a maximum értékekkel. \* $p < 0,05$  vs. kontroll. # $p < 0,05$  vs. hozzátartozó alcsoport. Statisztikai elemzés: Mann-Whitney teszt.

Vizsgált csop.	Származó sejt	Bazális sejt	c.LS	p.LS	c.LSM	p.LSM
Kontroll (n=19)	5239,1 $\pm$ 485 (4450-6249)	8663,4 $\pm$ 490 (7928-10000)	25,9 $\pm$ 26,6 (0-72)	66,7 $\pm$ 34,4 (32-165)	0,77 $\pm$ 0,71 (0-2)	2,22 $\pm$ 0,54 (0-3)
Gl. betegek (n=38)	5589,2 $\pm$ 685 (4427-7294)	9262,4 $\pm$ 790* (7175-10739)	54,1 $\pm$ 33,6* (0-130)	122,1 $\pm$ 74,4* (47-308)	1,23 $\pm$ 0,6* (0-2)	2,42 $\pm$ 0,64 (0-3)
p érték:	p=0,287	p=0,012	p=0,002	p=0,001	p=0,013	p=0,356
<i>Alcsoportok a terápia függvényében</i>						
TravBAK (n=19)	5778 $\pm$ 693* (4660-7294)	9653 $\pm$ 732* (7842-10739)	64,3 $\pm$ 39,5* (0-130)	127 $\pm$ 58,3* (68-308)	1,46 $\pm$ 0,6* (0-2)	2,74 $\pm$ 0,75 (0-3)
TravPQ (n=19)	545,3 $\pm$ 413 (4427-6126)	8755,3 $\pm$ 828# (7175-10350)	48,4 $\pm$ 32,7*# (0-104)	116,1 $\pm$ 51,8* (47-226)	1,0 $\pm$ 0,44*# (0-2)	2,23 $\pm$ 0,53 (0-3)
p érték:	p=0,405	p=0,002	p=0,048	p=0,152	p=0,011	p=0,053

## 6. Megbeszélés

1977-ben Thoft és Friend bevezették a szemfelszín fogalmát annak érdekében, hogy hangsúlyozzák a könnyfilm, valamint a corneális és conjunctivális epithelium szerkezeti egységét (2). Korábbi tanulmányok bizonyították, hogy a szemfelszín a vizuális funkcióban betöltött szerepén túl fontos immunológiai egységet képez, mely a külső környezeti és a szervezet belső hatásaira a szervezet védelme szempontjából fontos válaszreakciókat ad. Az elmúlt évtizedekben elsősorban az immunhisztokémiai eljárások fejlődésének köszönhetően a cornea immunprivilegizált státuszának újragondolása vált szükségsszerűvé. A cornea avaszkuláris és nyirokér-mentes állapotán túl számos immunsejtnek ad otthont, melyek lokális és szisztémás hatások alatt a szemfelszín immunitásának alakításában vesznek részt. A szemfelszín homeosztázisának felborulása a szemfelszín leggyakoribb megbetegedésének, a száraz szem kialakulásának kedvez. A szaruhártya immunológiai folyamatai azonban részleteiben nem ismertek általános gyulladósos kórképekben és glaukómában, ahol a száraz szem betegség az átlagpopulációnál gyakrabban és súlyosabb formában jelentkezik. A konfokális corneamikroszkóp felbontóképessége, felhasználóbarát kezelhetősége, a rövid vizsgálati idő lehetőséget teremtett munkacsoportunknak, hogy a cornea in vivo vizsgálatával a szaruhártya veleszületett immunitásában kiemelkedően fontos LS-eket tanulmányozza olyan gyulladósos reumatológiai kórképekben, mint az RA, AS és SLE, valamint olyan szemészeti kórképekben, mint a glaukóma. Ezek a kórképek entitásukat tekintve különböznek, mégis egy közös pontban, a száraz szem betegség gyakoribb előfordulásának tekintetében megegyeznek.

## 6.1. Rheumatoid Arthritis

A szisztémás gyulladásos immunfolyamatokban a szemfelszín érintettsége feltételezhető. Villani és mtsai a szaruhártyát konfokális corneamikroszkóppal vizsgálták RA-ban, és összefüggést kerestek a szaruhártya morfológiai elváltozásai és az általuk képzett másodlagos SS- és NSS-csoportok, valamint a betegség aktivitása között. Munkájukban a felszínes hámsejtek számának csökkenését tapasztalták RA-ban, míg a bazális hámsejtek számában emelkedést találtak a kontrollcsoporthoz képest. Ezen felül a stromális aktivált keratociták számának jelentős emelkedését és a szubbazális idegek számának csökkenését tapasztalták RA-ban (146). A szubbazális idegek aktivitását jól jellemző gyöngyfüzérszerű megvastagodás viszont kifejezett volt RA-ban. A betegség aktivitása (LI) és az aktivált keratociták, valamint a szubbazális idegek aktivitása között pozitív korrelációt írtak le, ami a cornea aktív részvételét sejteti a szisztémás immunológiai folyamatokban. A két alcsoport között nem találtak különbséget a vizsgált paraméterek tekintetében, melyből azt a következtetést vonták le, hogy a két csoportban a szaruhártyában hasonló gyulladásos és regeneratív folyamatok érvényesülnek(146).

Korábban több munkacsoport bizonyította, hogy a szemfelszíni APS-hez hasonlóan a corneális LS-ek a cornea különböző gyulladásos folyamataiban az immunogén és a tolerogén hatások kiváltásában döntő szerepet játszanak (50,147,148). Lin és mtsai SS és NSS száraz szem szindrómában szenvedő betegek vizsgálatakor jelentős LS- és leukocitaszám emelkedést tapasztaltak mind a centrális, mind a perifériás cornea területén a kontrollcsoporthoz viszonyítva (149). Kawamoto és mtsai Thygeson keratitisben, Zhivov és mtsai kontaktlencse-viselőknél talált magasabb LS-sűrűséget, illetve más kísérletes körülmények között keltett szemfelszíni gyulladás kapcsán is hasonló eredményekről történt közlés(3,148,150,151).

A cornea gyulladásos sejteinek aktiválódását több tényező segítheti: a fokozott felszíni hámsejtvesztés során számos proinflammatorikus citokin és kemokin szabadulhat a szemfelszínre (pl. interleukin-1, 6, 8, TNF- $\alpha$ ,  $\gamma$ , növekedési faktor- $\alpha$ , leukotrién B4 (IL-1, IL-6, IL-8, TGF- $\alpha$ , és LTB4), melyek önmagukban is a gyulladásos folyamatok kialakulásának kedveznek, illetve a keratociták aktivációja is bekövetkezik, mely szintén a gyulladás irányába terelheti az immunológiai folyamatokat (152,153).



Sohár és mtsai a fehérvérsejtek emelkedett lizoszomális enzimaktivitását találták RA-ban, valamint szaruhártya-gyulladásban számos leukocita enzim emelkedett szintjét mérték, melyeknek szintén fontos szerepük tételezhető fel a szemfelszíni immunfolyamatokban(154). Ismert, hogy a TNF- $\alpha$  és az IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 proinflammatorikus citokinek a gyulladásos reumatológiai kórképek patogenezisében is fontos szereppel bírnak, és fokozott jelenlétük a synoviális membránokban alapvető az RA-betegségben tapasztalt ízületi károsodások kialakulásában. Ezen felül egyre több adat támasztja alá az APS-ek által aktivált autoreaktív CD4+ T-sejtek kritikus szerepét a száraz szem betegségben tapasztalható destruktív folyamatokban (155). Feltételezésünk volt, hogy a krónikus szisztémás gyulladás és a fokozott proinflammatorikus citokin jelenlét a szemfelszínen is érvényesül, és az APS-ek számbeli és morfológiai jellegzetességeiben tükröződik. Vizsgálatunkban az RA-csoportokban az LS-sűrűség szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban. Jelentős különbséget tapasztaltunk az LS-ek aktiváltságában is a két csoport között, amit a szemfelszínen zajló aktív immunfolyamatok részjelenségeként értelmeztünk. Hasonlóan Villani és mtsai vizsgálatához, munkacsoportunk a betegség aktivitásának tükrében is értelmezni kívánta az eredményeinket. Munkánkban a betegség aktivitásának megítélésére a DAS-28 értéket alkalmaztuk, mely az RA-ban jelenleg leginkább használatos betegség aktivitási jelző. A DAS-28 érték és a corneális LS-ek száma között korrelációt nem tapasztaltunk, melyet magyarázhat, hogy a betegek jelentős része a vizsgálatkor az alkalmazott kezelések mellett remisszióban volt. A GCS-terápia mellett tapasztalt csökkent LS-szám a GCS erőteljes LS-migráció gátló képességére utal, és egybeesik Dana eredményeivel (152). A szemfelszín immunstátuszának és az immunológiai kórképeknek a lehetséges kapcsolatát jól példázza, hogy krónikus szisztémás gyulladásos kórképekben, így RA-ban a száraz szem betegség prevalenciája meghaladja a normál populációban tapasztalt gyakoriságot. A betegség RA-ban az esetek kb. 10%-ában másodlagos SS képében jelentkezik, de az RA-betegek 90%-a szenved élete során a száraz szem betegség enyhe vagy közepes súlyos formáival (5,7). A száraz szem betegség kialakulásában a csökkent könnytermelés mellett a fokozott könnyvesztésen alapuló mechanizmus is szerepet játszhat (156). A betegség aktivitása és a száraz szem betegség súlyossága közötti kapcsolat pedig nem egyértelmű(7). Fujita és mtsai hetvenkét RA-beteget vizsgálva összefüggést mutattak ki az RA-betegség aktivitása

(Lansbury-index, LI) és a könnytermelés között azokban az esetekben, amikor az RA másodlagos SS-szel szövődött. További összefüggést találtak ebben a csoportban a vérsüllyedés és a könnytermelés között, azonban a NSS RA-csoportban semmilyen összefüggést nem találtak az általuk vizsgált paraméterek (Schirmer I teszt, TBUT, fluorescein és bengálvörös festés) és az RA-betegség aktivitása között. Eredményeikből arra következtettek, hogy RA-ban a száraz szem kialakulása eltérő mechanizmusok szerint valósulhat meg az SS- és NSS RA-betegségekben (7). A gyulladásoos reumatológiai kórképek citokin háttere, és száraz szem betegségben a könnyben kimutatható gyulladásoos citokin mintázat sok tekintetben hasonló. A TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 citokinek döntő fontossággal bírnak mindkét betegség kialakulásában, illetve a krónikus gyulladásoos folyamatok fenntartásában(5,157). Feltételezésünk az volt, hogy a kifejezettebb szisztémás gyulladás a szemfelszínen is érvényesül, mely másodlagosan száraz szem betegség kialakulásához vezet, melyben a csökkent könnytermelés dominálhat. A gyulladásoos citokin túlsúly a szemfelszínen kontrollálatlan autoreaktív T-sejt klónok kialakulásához vezethet, melyek a paraszimpatikus idegvégződések destrukcióján keresztül a könnytermelés csökkenését okozhatják. Ezt a feltételezést támogatja az a tény, hogy a primer vagy secunder SS-ben a könnytermelés csökkenésének mértéke gyakran nem mutat szorosabb összefüggést a könnymirigy szöveti károsodásával, és ebben a muszkarin 3-as típusú acetilkolin receptor elleni immunválasz szerepet játszhat (158).

Munkánkban az RA-csoportban a száraz szem panaszok gyakrabban fordultak elő, és – habár az RA- és a kontrollcsoport között a könnytermelésben és a könnyfilm stabilitásában nem volt szignifikáns különbség – a GCS-terápián lévő, magasabb betegség aktivitást mutató betegek esetében a könnytermelés csökkent volt. Fontos kihangsúlyozni, hogy a vizsgálatba bevont RA-betegeknél a secunder SS-t kizártuk. A csökkent könnytermelés patomechanizmusában a fokozott proinflammatorikus citokin jelenlétet feltételeztük.

Munkánkat további gyulladásoos reumatológiai kórképekben kívántuk folytatni, hogy megvizsgáljuk az alapbetegség, a corneális LS-ek és a száraz szem betegséget jellemző paraméterek lehetséges kapcsolatát.

## 6.2. Spondylitis Ankylopoetica

A spondylarthropathiákban, így ennek egyik típusos képviselőjében, a spondylitis ankylopoeticában is gyakran szemészeti gyulladással kórképek alakulnak ki. Az esetek döntő többségében elülső uveitis képeben jelentkezik a gyulladás, azonban a szem hátsó szegmentumára lokalizálódó formákkal is találkozhatunk (116). AS-ban a szemfelszín gyulladása és a száraz szem betegség kevésbé vizsgált, azonban Kobak és mtsai hetven AS-beteg vizsgálatát végezve hét esetben (10%) másodlagos SS-t találtak (117). Ismert, hogy a szemgyulladások gyakran az alapbetegség aktivitásától függetlenül is kialakulhatnak, ami a lokális gyulladással és immunszabályozási folyamatok jelentőségét hangsúlyozza. Az EALT szerepét a szemfelszíni gyulladással folyamatokban Knop és mtsai részleteiben ismertette (53), azonban a cornea immunstátuszának jellemzésére és in vivo vizsgálatára alkalmas LS-eket AS-ban munkacsoportunk elsőként tanulmányozta. Megállapítottuk, hogy AS-ban a klinikai tünetekkel járó szemészeti gyulladás hiányában is az LS-ek nagyobb számban és aktív, érett formában vannak jelen a corneában, melyet a szisztémás betegség következményének tulajdonítottunk. Ez a feltevésünk összecseng Villani tanulmányával, aki RA-ban összefüggést talált a szisztémás betegség aktivitása és a corneális keratocita aktivitás között, mely a szaruhártyában zajló immunfolyamatok jelzőjeként értelmezhető (146). A centrális LS-sűrűség és a betegség aktivitása között nem találtunk szoros összefüggést, azonban a magasabb betegség aktivitási értékek mellett konzekvensen nagyobb LS-sűrűséget észleltünk. A perifériás LS-szám pedig pozitív korrelációt mutatott a BASDAI betegség aktivitási indexszel. Ráadásul a magasabb CRP-értékek az LS-ek aktivitásával szintén korreláltak, ami a szisztémás gyulladás és LS-aktivitás közti összefüggést támogatja.

A HLA-B27 antigén a kaukázusi populáció 6-10%-ában, míg az AS-betegek körében több mint 90%-ban van jelen (159). Ezen felül elülső uveitisben szenvedő betegekben az antigén kb. 50%-ban kimutatható (112). Khan és munkacsoportja a HLA-B27+ és HLA-B27-betegeket vizsgálva nem talált különbséget a két csoport között a betegségre jellemző arthropathia súlyosságának vonatkozásában, azonban a HLA-B27+ esetekben az uveitis gyakoribb előfordulását írta le (112). Munkánkban a betegbeválasztás a HLA-B27 szerológia vonatkozásában 1:1 arányban történt, így egyúttal lehetőségünk volt a HLA-B27 antigén szerepének tisztázására.

Vizsgálatunkban a HLA-B27 pozitívitas nem mutatott összefüggést sem az LS-ek sűrűségével vagy aktivitásával, sem a száraz szem paraméterekkel, amiből arra következtettünk, hogy a corneális immunfolyamatokban az antigén nem játszik jelentős szerepet.

A betegcsoportban csökkent könnytermelést tapasztaltunk, mely összecseng Ortak és mtsai eredményeivel (160). A csökkent könnytermelés okainak felderítésére további analízist végeztünk. Kifejezett könnytermelés-csökkenést találtunk magasabb CRP-szint mellett, mely Villani korábbi eredményeivel összhangban van, és támogatja hipotézisünket, hogy a szisztémás gyulladás fokozódása a lokális immunszabályozási folyamatok regulációs zavarához, a szemfelszín gyulladásához és így a száraz szem kialakulásához vezethet(146).

A szisztémás gyulladás, annak szemfelszínre és a könnytermelésre gyakorolt hatását SS-ben több szerző ismertette, azonban egyéb gyulladásos reumatológiai kórképben irodalma csekély és ellentmondásos (4,144,161). Lee és mtsai a könny különböző proinflammatorikus citokin- és kemokin-tartalmát (IL-2,4,6,10,17, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) vizsgálták SS, NSS száraz szem betegségben, valamint kontrollcsoportban. A legmagasabb értékeket az SS-ben, majd NSS-ben, és legalacsonyabbat a kontrollcsoportban mérték, valamint az IL-17 proinflammatorikus citokin szintje szignifikánsan magasabb volt alacsony TBUT- és Schirmer-értékek mellett. Eredményeikből arra következtettek, hogy a két betegcsoportban a száraz szem kialakulásának patomechanizmusa eltérő(162). Villani és mtsai 12 RA-, és 12 másodlagos SS RA-beteg könnyét elemezték, és vizsgálták a száraz szem paramétereit (OSDI, TBUT, Schirmer-teszt, Fluorescein-festődés) az alapbetegség kezelése előtt és után.

A könnyben az IL-1,6,8 és TNF- $\alpha$  citokinek szintjét mérték. A kezelés után a száraz szem paraméterek javulását és a corneális dendritikus sejtek csökkenését találták a másodlagos SS RA-betegcsoportban, míg az RA-csoportban hasonló összefüggést nem találtak. Következtetésük szerint a két csoportban a száraz szem kialakulásának mechanizmusa különbözött(161). Dana és munkatársai munkájában prednisolon kezelés hatására a corneális LS-ek száma szignifikánsan csökkent, a proinflammatorikus citokinek (IL-1, TNF- $\alpha$ ) szintjének párhuzamos csökkenésével(152).

Munkánkban alacsonyabb szisztémás gyulladás esetén a száraz szem szubjektív és objektív paraméterei a kontrollcsoport értékeivel összemérhetőek voltak, ami Villani feltevésével szintén nehezen magyarázható, és a szisztémás és lokális immunregulációs folyamatok egymáshatásának komplexitását igazolja. A gyulladásos immunológiai kórképek, a szemfelszín gyulladása, a corneális LS-ek és a száraz szem betegség kapcsolatainak teljesebb megértése céljából vizsgálatainkat egy szintén krónikus lefolyású szisztémás gyulladásos kórkép vizsgálatával folytattuk.

### **6.3. Szisztémás Lupus Erythematosus**

Az SLE egy krónikus lefolyású szisztémás megbetegedés, mely több szervben jellegzetes gyulladásos elváltozásokat okoz. Szemészeti vonatkozásában kiemelendő a szaruhártya, episclera és a sclera gyulladása, valamint a súlyos látásvesztéssel fenyegető retinális vasculitis (163,164). Leggyakrabban azonban száraz szem betegséggel találkozunk, mely irodalmi adatok szerint gyakran másodlagos SS képében jelentkezik. Manoussakis és mtsai 283 SLE-beteg vizsgálatát végezte, ahol a másodlagos SS 9,2%-ban fordult elő a szemfelszín súlyosabb elváltozásaival társulva(165). Ezekben a betegekben a Raynaud's fenomenon, anti-Ro és anti-La antitest, valamint az RF gyakrabban volt jelen, míg a veseérintettség, lymphadenopathia és thrombocytopenia ritkábban fordult elő. A száraz szem betegség enyhe-közepes formája azonban a betegpopulációban lényegesen gyakrabban fordul elő, és a beteg az időszakosan meglévő száraz szem panaszai miatt nem keresi szemorvos segítségét. Célkitűzésünk volt, hogy e betegcsoporton végzett vizsgálatokkal tovább keressük az általános gyulladás és a corneális immunfolyamatok közötti lehetséges összefüggést, valamint eredményeinket az SLE-ben gyakrabban előforduló száraz szem betegség tükrében is értelmezzük. Munkacsoportunk SLE-ben elsőként tanulmányozta a corneális immunfolyamatokat, és jellemezte a corneális LS-eket in vivo konfokális corneamikroszkóppal. Az RA- és AS-betegpopulációhoz hasonlóan a corneális LS-ek számát szignifikánsan magasabbnak találtuk az SLE-betegek esetében, és az LS-ek morfológiai megjelenése is a corneális immunfolyamatok fokozott aktivitását tükrözte. SLE-ben a dendritikus sejtek fokozott interferon- $\alpha$  produkciója áll fenn, ami számos effektor mechanizmus beindításán keresztül az SLE-re jellemző klinikai képet eredményezi. SLE-ben a bazális membránokban immundepozitum lerakódásokat írtak le, amelyek anatómiai közelségük folytán folyamatos antigén expozíciót jelenthetnek

azLS-nek, mellyel fokozott aktivitásuk magyarázható lenne(166). A konfokális mikroszkóp feloldóképessége azonban nem alkalmas az immunkomplexek jelenlétének igazolására. SLE-ben számos gyulladáshoz kapcsolódó citokinnal igazolódott, hogy a szisztémás immunfolyamatokban fontos szerepet játszanak. Az alfa és béta típusú interferonok mellett a korábbi kórképekben már említett proinflammatorikus citokinek (IL-1,6 és a TNF- $\alpha$ ), valamint az immuntolerancia kialakításában fontos IL-10 citokinek jelenléte szintén kiemelt fontosságúak a betegség patogenezisében és a szervspecifikus elváltozások létrejöttében(167).

Amint a korábbiakban már igazoltam, ezen gyulladáshoz kapcsolódó citokinek a corneális LS-ek érésének és mobilizációjának is elsődleges irányítói. Munkacsoportunk ezért hasonlóan az RA- és az AS-betegségben tapasztaltakhoz, az SLE-ben a magasabb LS-számot és morfológiai elváltozásokat a szisztémásan és feltehetően a szemfelszínen is fokozottan megjelenő proinflammatorikus citokinnal jelenlétnek tulajdonította. A szisztémás gyulladás/aktív alapterület és az LS-paraméterek közötti összefüggés elemzésére a bevont betegpopuláció korlátozottan volt alkalmas, hiszen SLE-s betegek a SLEDAI betegségaktivitási index alapján zömében az enyhe aktivitást mutató csoportba tartoztak.

A betegcsoportban a fokozott betegség aktivitás mellett a könnytermelés kifejezett csökkenését tapasztaltuk, mely összhangban van az AS-betegen végzett vizsgálati eredményeinkkel (4). Ezen felül a betegcsoportban a könnyfilm integritását jellemző TBUT-érték is patológiás volt. Az SLE-betegségekre jellemző női dominancia vizsgálatunkban is szembetűnő volt, és a könnyfilm stabilitásában tapasztalt eltérésben a relatív ösztrogéntúlsúly és a csökkent androgén hormonszint is szerepet játszhatott (156). Cordero-Coma és mtsai a szisztémás gyulladáshoz kapcsolódó mérséklődés mellett a könnytermelés javulását tapasztalták, mely szintén egybeesik eredményeinkkel(168). Wangkaew tanulmányában a száraz szem előfordulását 36%-nak, míg Gilboe 28%-nak találta SLE-ben (8,169). Vizsgálataink szintén támogatják azt a feltevést, hogy SLE-ben a száraz szem betegség aluldiagnosztizált. Lin és mtsai feltételezése szerint a corneális immunstátusz és a könnytermelési zavar kapcsolata nyilvánvaló, azonban a cornea pontos szerepe az immunfolyamatokban részleteiben még nem ismert(51). SLE-ben a corneális LS-ek és a száraz szem közötti direkt kapcsolatot igazolni nem

tudtuk, ami az immunfolyamatok komplexitása mellett a beteganyagunk sajátosságaival is magyarázható. Csökkent könnytermelés esetén azonban a cornea centrális és perifériás területein a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva szignifikánsan magasabb LSM-értékeket találtunk, mely eredmény értékeléséhez további vizsgálatok végzését tartjuk szükségesnek. SLE-betegeink a vizsgálatok idején a betegségaktivitási index alapján remisszióban voltak, vagy enyhe aktivitásuk volt (SLEDAI <8). Az alapbetegség kifejezettebb aktivitása csupán három betegnél állt fenn (SLEDAI >8), azonban ezekben az esetekben a periférián elhelyezkedő LS-ek helyenként egymással hálózatszerűen összekapcsolódva helyezkedtek el, mely kifejezett aktivitásuk mellett a szisztémás gyulladás lokális, szemfelszínre gyakorolt hatásait tükrözi. Munkánkban az emelkedett CRP-értékek (CRP>5 mg/l) mellett a centrális LS-sűrűség a kontrollhoz képest emelkedett volt, míg alacsonyabb CRP-értékek mellett az LS-szám a kontrollal összemérhetőnek bizonyult, ami szintén a szisztémás gyulladás corneális immunfolyamatokra kifejtett hatásaként értelmezhető. SLE-ben az RA-hoz és az AS-hoz hasonlóan a corneális LS-szám emelkedett és az LS aktív fenotípus jelenléte dominál, és a fokozott corneális immunaktivitás SLE-ben is szerepet játszhat a száraz szem betegség patomechanizmusában.

#### 6.4. A glaukóma-ellenes szemcseppek és a szemfelszín

Az elmúlt években a szemfelszín konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálatai nagymértékben hozzájárultak a glaukóma ellenes csepkezelésekkel kapcsolatba hozható patológiás szemfelszíni folyamatok teljesebb megértéséhez. A szaruhártyáról, kötőhártyáról, az abban lévő limfoid elemekről, a Meibom-mirigyekről készült nagyfelbontású képek mellett a vizsgálati módszer a filtrációs glaukóma műtétek tekintetében a filtrációs párna funkció feltérképezésében és a terápiák tervezésében lehet hasznos klinikai eszköz(46).

A glaukóma konzervatív terápiájában alkalmazott szemcseppek, krónikus adagolásuk miatt jelentős hatást gyakorolnak a szemfelszínre (170-177). A hatások egy részéért a szemcseppekben gyakran alkalmazott BAK tehető felelőssé. A BAK egy erős antimikrobiális és antifungális tulajdonságokkal rendelkező quaterner ammónium vegyület, mely a sejt felszíni és cytoplazmatikus membránok feloldásán és a sejtalkotó proteinek denaturálásán keresztül fejt ki hatását (174). A szemfelszínre gyakorolt detergens hatása, a hosszú lebomlási idő és gyulladáskeltő tulajdonságai miatt – olyan kórképekben, mint a glaukóma, ahol hosszú távú alkalmazása szükséges – káros hatások megjelenésével számolhatunk. Számos in vitro és in vivo tanulmány bizonyította a BAK epithelium sejtekre kifejtett destruktív hatását. Ammar és mtsai kimutatták, hogy a BAK azon kívül, hogy cytotoxikus hatást fejt ki a szemfelszín borító hámsejtekre, a trabekuláris hálózat hámsejtjeinek túlélését is csökkenti(170). Epstein és mtsai bizonyították, hogy a BAK még igen alacsony koncentrációban is képes a szemfelszíni hámsejtekből az IL-1 és TNF- $\alpha$  koncentrációfüggő termelődését kiváltani (173). Ezzel szemben a poliquaternium (PQ) szemfelszínre gyakorolt hatása ellentmondásos. Whitson és mtsai in vitro vizsgálataikban a PQ sejtkárosító hatását nem tudták igazolni (178). Liang és mtsai hasonló eredményekre jutottak állatkísérletes vizsgálataikban (179). Ezzel ellentétben Paimela és mtsai corneális epithelium sejtenyészetben a PQ NF- $\kappa$ B vezérelt gyulladáshoz vezető reakciót erősítő és citotoxikus hatásokat kiváltó hatásairól számoltak be(180). A glaukómás szemcseppek szemfelszínre károsító hatásának kiterjedt irodalma van, és számos in vitro és in vivo tanulmányt foglalnak magukban.



Martone és mtsai 84 glaukómás beteg konfokális corneamikroszkópos vizsgálatát végezve a felszínes hámsejtek számának csökkenését, míg a bazális hámsejt sűrűség növekedését tapasztalták a BAK tartósítószerrel tartalmazó szemcseppet használó betegcsoportok esetében(172). Liang és mtsai BAK tartósítószerrel ellátott prosztoglandin-analóg és tartósítószer-mentes prosztoglandin-analóg szemcseppek vizsgálatakor pedig igazolták, hogy a sejtkárosító és gyulladáskeltő hatásért egyértelműen a tartósítószer a felelős (181). Az egészséges szaruhártya egyes hámsejtrétegeinek sűrűségében az irodalmi adatok nem egységesek (18,19). A mérések közötti különbségek részben a vélhető nagy individuális variabilitással, az eltérő mérési módszerekkel magyarázhatóak. A folyamatosan leváló és az alsóbb rétegekből a felszínre jutó hámsejtek vizualizálása még gyakorlott kézben is gyakran nehéz, ami a mérési eredményeket szintén befolyásolhatja (18,19).

Vizsgálatunkban e fenti tényezők miatt a felszínes hámsejtek vizsgálatát nem végeztük, hiszen a kevés irodalmi adat és a nagy szórás miatt érdemi következtetést eredményeink után nem reméltünk. A szárnyas sejtek vizsgálata konfokális mikroszkóppal nagy biztonsággal kivitelezhető. A mérési eredményeket azonban befolyásolhatja, hogy a több sejtsorból álló réteg melyik területéről történik az optikai mintavétel. Munkacsoportunk a szárnyas sejtek sűrűségének vizsgálatát a felszíntől számított 15-20  $\mu\text{m}$  mélységben végezte, és adataink az egészséges kontroll tekintetében Eckard és mtsai eredményeivel összhangban vannak(21). A bazális sejtsűrűség tekintetében szintén a fenti szerzők tanulmányaira támaszkodhatunk. A tapasztalt eltéréseket a fentebb kifejtett különbségekkel magyarázhatjuk, hozzátevé, hogy a mérést nagyban megkönnyíti a Bowman-membrán anatómiai helyzete, mely jó tájékozódást nyújt az optikai mintavételezéshez.

Munkánkban a cornea szárnyas és bazális epithelsejt számának emelkedését tapasztaltuk a TravBAK-terápián lévő betegcsoportban, míg a TravPQ-terápia mellett nem volt különbség a beteg- és a kontrollcsoport között. A TravBAK-terápia mellett tapasztalt fokozott sejtproliferáció a szemfelszínről leváló, elhalt hámsejtekből felszabaduló mediátor anyagok megnövekedett jelenlétével magyarázható, melyben a BAK hatása feltételezhető(173).

Ezzel szemben a TravPQ-al kezelt betegek esetében tapasztalt alacsonyabb sejtsűrűséget a proliferatív stimulus elmaradásaként értékeltük.

Martone és mtsai in vivo konfokális mikroszkópiás módszerrel a hámsejtek számában tapasztalt eltérések mellett a szubbazális idegek fokozott kanyargósságát is tapasztalták glaukómában. Eredményeiket Ranno és mtsai megerősítették(182). Munkacsoportunk ebben a tanulmányban a szubbazális idegek vizsgálatát nem végezte. Döntésünkben irányadó volt, hogy jelenleg nemzetközileg elfogadott standardizált és validált mérési módszer nem áll rendelkezésre, és a szubbazális idegek számának és lefutásának megítélése erősen szubjektív. A réteg azonban immunológiai szempontból igen érdekes, hiszen a vizsgálatunk fő célkitűzését jelentő LS székhelye éppen a szubbazális réteg magasságában van.

A BAK által kiváltott gyulladásoz szemfelszíni reakciókat számos szerző ismertette (173,181). Az irodalomból szintén ismert, hogy ezen citokin molekulák nélkülözhetetlenek a corneális LS-ek éréséhez és irányított mozgásához (69,70,183).

Zhivov és mtsai egészséges populáción vizsgálta a BAK LS-re kifejtett hatását. Munkájukban 0,01%-os töménységű BAK-oldattal kezelt szemeken szignifikáns LS-szám emelkedést tapasztaltak hat héttel a tanulmány megkezdését követően. A kísérlet felfüggesztése utáni negyedik héten az LSSűrűsége a kiindulási értékre csökkent(3). Tanulmányunkban a TravBAK-kal kezelt csoportban tizenkilenc beteg tizennyolc szemén találtunk LS-eket a szaruhártya centrumában (95%), míg ugyanezen változó a kontrollcsoportban 47% volt. A kifejezett különbség a glaukómás csoport és a kontrollcsoport között mind a centrális, mind a perifériás LS-ek tekintetében bizonyítható volt, és egybecseng Zhivov eredményeivel. Ezen túl a két glaukómás csoport összehasonlításakor a TravPQ mellett alacsonyabb LS-sűrűséget tapasztaltunk a cornea centrális területén, melyet a BAK destruktív hatásának hiányával magyarázhatunk.

A TravPQ terápia mellett azonban az LS-sűrűség még mindig szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban, mely a PQ gyulladáskeltő hatását sejteti, és egybecseng Paimela és mtsai eredményével (180).

A BAK tartósítószeret tartalmazó szemcseppek hosszú távú használata mellett száraz szem szindróma kialakulásával, illetve a meglévő panaszok súlyosbodásával számolhatunk (184). Martone BAK-kal tartósított, különböző támadáspontú szemcseppekkel végzett kísérletében minden csoport esetén csökkent könnytermelést tapasztalt, melyet a BAK hatásaként értékelt (172).

Pisella és mtsai tanulmányukban a száraz szem panaszok előfordulását gyakoribbnak találták a tartósítószerrel ellátott glaukóma-ellenes szemcseppeket használók körében, mint a tartósítószer-mentes szemcseppet használóknál (185). Terai és mtsai glaukóma-ellenes szemcseppek rövid távú használata mellett szerzett tapasztalatai is igazolták, hogy a különböző támadáspontú szemcseppek képesek a szaruhártya érzékenységét, a könnytermelést és könnyfilm stabilitását csökkenteni(186). Kutatásunkban a szubjektív panaszok felmérésére a szemfelszíni betegség indexet (OSDI) használtuk, melyet több szerző is gyors és megbízható tesztként ismertetett (143,174). Munkánkban a TravBAK szemcseppet használó betegcsoportban magasabb OSDI- és emelkedett LIPCOF-értékeket tapasztaltunk, ami a Terai és Martone munkájában tapasztaltakkal összhangban van. Az általunk vizsgált száraz szem paraméterek tekintetében a két alcsoport között nem találtunk különbséget, habár a könnytermelés és a könnyfilm stabilitásának tekintetében a TravPQ-t használó betegek esetében konzekvensen alacsonyabb értékeket mértünk, melyet a BAK okozta detergens hatás kiesése mellett a BAK egyéb szemfelszínre gyakorolt káros hatásainak (direkt cytotoxikus és immunallergiás reakciót kiváltó hatás) hiányával magyarázhatunk, és a Labbé és mtsai munkájában tapasztaltakkal összecseng (175). Ezen felül a TravPQ-t használó betegcsoport és a kontrollcsoport között a szubjektív panaszok mellett a LIPCOF és a könnyfilm stabilitásának tekintetében sem volt különbség, melyek a szemfelszíni homeosztatisz funkciók enyhébb eltéréseit sejtetik. Ezzel szemben a TravBAK-csoportban a szubjektív tünetek kifejezettek voltak, és a szemfelszíni paraméterek mindegyike kóros értéket mutatott. Habár szignifikáns korrelációt a száraz szem paraméterek és az LS-ek vonatkozásában nem sikerült igazolni, tanulmányunkban kimutattuk, hogy mindkét glaukómás betegcsoportban a könnytermelés csökkenése mellett az LS-sűrűség jelentősen emelkedett volt. Ezen felül az LS-ek számában különbség mutatkozott a két glaukómás csoportban, ahol a hatóanyag azonosság mellett a különbséget az alkalmazott tartósítószer jelentette. Az LS-ek nagyobb sűrűsége és aktivitása központi szerepet játszhat a corneális immunfolyamatok beindításában és szabályozásában glaukómában, és a kiváltott immunválasz erőssége pedig az alkalmazott kezeléstől függhet.

## 7. Következtetések

1. Az RA-betegcsoport vizsgálata során nyert eredmények nem adtak egyértelmű választ a száraz szem betegség kialakulási mechanizmusaira ebben a kórképben. A szisztémás gyulladás patognomikus szerepét RA-ban csak részlegesen tudtuk bizonyítani. Kimutattuk, hogy azoknak a betegeknek, akik adjuváns kezelésként glükokortikoszteroid terápiában részesültek (magasabb betegség aktivitású betegek), a kontrollhoz képest csökkent a könnytermelésük másodlagos Sjögren-szindróma megléte nélkül is.

Munkacsoportunk bizonyítékot szolgáltatott, hogy a szaruhártya dendritikus sejtszaládjába tartozó corneális LS-ek fontos szerepet játszanak a szemfelszíni immunfolyamatokban. Elsőként írtuk le, hogy RA-ban a szaruhártya centrális és perifériás területén az LS-ek sűrűsége és a centrális LS-ek aktivitása szignifikánsan nagyobb, mint a kontrollcsoportban.

2. Elsőként írtuk le, hogy AS-ban a könnytermelés másodlagos Sjögren-szindróma hiányában is csökkent a kontrollcsoporthoz viszonyítva, és a szisztémás gyulladás fokozódása (emelkedett CRP és BASDAI) a könnytermelés további csökkenésével jár.

Elsőként publikáltuk, hogy AS-ban a centrális és perifériás cornea területén az LS-ek sűrűsége és a sejtek aktivitása a centrális corneában nagyobb, mint a kontrollcsoportban. További vizsgálattal kimutattuk, hogy AS-ban a HLA-B27 státusz a cornea LS-ek számát és aktivitását nem befolyásolta. Ebből arra következtettünk, hogy a gén nem játszik jelentős szerepet a cornea immunológiai folyamataiban.

3. Kimutattuk és elsőként jegyeztük le, hogy azokban az SLE-ben szenvedő betegekben, akiknek a betegségaktivitásuk magas, másodlagos Sjögren-szindróma hiányában is csökkent a könnytermelés a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Elsőként mutattuk be, hogy SLE-ben a centrális szaruhártya területén az LS-sűrűség és aktivitás szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollcsoportban.

Az LS-ek jelenléte és fokozott aktivitása a corneában gyulladással járó reumatológiai kórképekben az alapbetegség aktivitástól függetlenül észlelhető. Az LS-ek és a száraz szem paraméterek között észlelt gyenge korreláció az LS funkciók komplexitását igazolja, melyben mind az immunogén, mind pedig a tolerancia kialakulását segítő immunfolyamatok szabályozása helyet kaphat. Munkánkban rávilágítottunk arra, hogy a szemfelszín homeosztatiszikus folyamatainak zavara hozzájárulhat a száraz szem betegség kialakulásához az általunk vizsgált gyulladással járó reumatológiai kórképekben másodlagos Sjögren-szindróma hiányában is. Eredményeinkből arra következtettünk, hogy a könnytermelés csökkenésének hátterében olyan mechanizmusok is szerepet játszhatnak, amelyek az alapbetegség aktivitásától függhetnek.

Az általános gyulladással járó kórképek mellett a helyi kezelést igénylő glaukómában a hosszantartó cseppkezelés a szemfelszín homeosztatiszikus funkcióinak felbomlása által hozzájárulhat a száraz szem betegség kialakulásához, melyben a szemcseppben alkalmazott tartósítószer fontos szerepet játszhat.

4. Kimutattuk, hogy glaukómában, a travoprost hatóanyagú szemcseppel kezelt betegek könnytermelése csökkent, és ez a csökkenés a tartósítószer anyagától független, hiszen a poliquaterniummal tartósított travoprost kezelésben részesült betegek esetében is ez igazolható volt.

Elsőként írtuk le, hogy glaukómában, a travoprost hatóanyag mellett alkalmazott tartósítószer anyaga és a corneális LS-ek száma között összefüggés van. Szignifikánsan alacsonyabb centrális LS-sűrűséget és aktivitást tapasztaltunk a poliquaternium tartalmú szemcseppekkel kezelt szemeken a benzalkónium-kloriddal tartósított travoprost szemcseppet használókkal összevetve. A TravPQ-t használó betegek esetében a kontrollhoz viszonyítva tapasztalt nagyobb LS-sűrűség és aktivitás viszont a poliquaternium tartósítószer gyulladáskeltő hatását igazolhatja.

Eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy az általános gyulladással járó kórképekben és glaukómában tapasztalt fokozott corneális LS-sűrűség és aktivitás a cornea aktív részvételét jelentheti a bonyolult immunológiai folyamatokban. A cornea homeosztázisának fenntartása komplex mechanizmusok interakcióján keresztül valósul meg, melyek pontos megismerése a jövő nagy feladatai közé tartozik.

## 8. Összefoglalás

A szaruhártya a szemfelszín egy kitüntetett területe, melynek elsődleges feladata rétegei átlátszóságának megőrzése. A cornea integráns része annak a komplex szemfelszíni immunrendszernek is, amely aktív mechanizmusokon keresztül a szemfelszín homeosztázisát megteremti. A cornea immunprivilegizált státuszának fenntartása nemcsak a szaruhártya avasculáris és alimfatikus tulajdonságának köszönhető, hanem olyan aktív folyamatoknak is, amelyekben a szemfelszíni dendritikus sejteknek és a corneális Langerhans-sejteknek (LS) döntő szerepük lehet. Ismert tény, hogy a gyulladásos ízületi megbetegedésekben a fokozott proinflammatorikus citokin jelenlét alapvető, és a száraz szem betegség gyakrabban fordul elő, ami a szemfelszín érintettségét sejteti az immunológiai folyamatokban. Munkacsoportunk az értekezés alapját képező dolgozatokban arra vállalkozott, hogy a száraz szem felmérésén túl megvizsgálja a szaruhártya immunitását jellemző LS-sűrűséget és aktivitást olyan másodlagos Sjögren-szindrómát nem mutató általános gyulladással járó autoimmun kórképekben, mint a rheumatoid arthritis (RA), a spondylitis ankylopoetica (AS) és a szisztémás lupus erythematosus (SLE), valamint glaukómában, ahol a hosszantartó cseppkezelés a szemfelszín homeosztatisz funkcióinak károsodását okozhatja. Eredményeink szerint mindhárom reumatológiai kórképben a száraz szemmel kapcsolatos panaszok gyakran fordultak elő: AS-ben és SLE-ben pedig a magasabb betegség aktivitás csökkent könnytermeléssel párosult. Konfokális corneamikroszkóppal szignifikánsan magasabb LS-sűrűséget találtunk a cornea centrális területén mindhárom gyulladásos kórképben, ezen felül az LS-ek dominánsan aktív, érett formában voltak jelen. Nagyobb LS-sűrűséget mértünk a glaukómás betegcsoportban is, ahol kimutattuk, hogy az LS-szám és aktivitás az alkalmazott terápia toxikus hatásával összefüggésbe hozható. Eredményeink bizonyítékkal szolgálnak arra, hogy a cornea aktív résztvevője a szemfelszínen zajló immunfolyamatoknak, melyben a szisztémás és lokális gyulladás okozta hatások érvényesülnek. A száraz szem kialakulásának patomechanizmusában a corneális LS-ek pontos szerepe nem ismert, de szerepük a gyulladásos szemfelszíni immunfolyamatokban tagadhatatlan.

## 9. Summary

The cornea is the most important part of the ocular surface and its pivotal role is to preserve its integrity in order to maintain corneal transparency. The cornea plays a major role in the ocular surface immunity which controls responses to external and internal stimuli to protect homeostasis. The corneal immune privilege is secured through series of active mechanisms rather than a simple consequence of the avascular and alymphatic nature of the cornea. In this multitude of immune mechanisms Langerhans cells (LC) are of paramount importance by shaping the innate and adaptive immune responses. It is known from previous studies that proinflammatory cytokines are overexpressed in autoimmune rheumatic diseases and seem to be key factors in the development of dry eye disease as well, however the exact role of corneal LCs in the complex immune mechanisms has not yet been investigated. Our team has undertaken a series of investigations to examine dry eye and to find out how general inflammation act on the innate immunity of the cornea by studying the corneal LCs in rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and systemic lupus erythematosus. We also aimed to investigate adverse effects of topical therapy related corneal changes in glaucoma patients. Our results demonstrated that dry eye related symptoms are more common in our patient groups without the interfering effects of secunder Sjögren's syndrome. Additionally the tear production was significantly compromised in AS and SLE patients. We have also found greater densities of central corneal LCs in all inflammatory rheumatic diseases. Furthermore we have shown that these cells were in a mature stage representing their active form. We have also found greater densities of LCs in the glaucoma patient groups and shown their therapy related alterations in the cornea. Our results have provided evidence of complex immune mechanisms operating in the cornea which could be considered as an active participant in the systemic and local immunological reactions. The precise mechanism of LCs in the stream of events leading to DED still controversial but their role in ocular surface immune reactions is unmistakable.

## 10. Irodalomjegyzék

1. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. (2004) The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res*, 78: 409-416.
2. Barabino S, Chen Y, Chauhan S, Dana R. (2012) Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 31: 271-285.
3. Zhivov A, Kraak R, Bergter H, Kundf G, Beck R, Guthoff RF. (2010) Influence of benzalkonium chloride on Langerhans cells in corneal epithelium and development of dry eye in healthy volunteers. *Curr Eye Res*, 35: 762-769.
4. Marsovszky L, Németh J, Resch MD, Toldi G, Legány N, Kovács L, Balog A. (2013) Corneal Langerhans cell and dry eye examinations in ankylosing spondylitis. *Innate Immun*, 20: 471-477.
5. Tong L, Thumboo J, Tan YK, Wong TY, Albani S. (2014) The eye: a window of opportunity in rheumatoid arthritis? *Nat Rev Rheumatol*, 10: 552-560.
6. Lemp AM. (2005) Dry eye (keratoconjunctivitis sicca), rheumatoid arthritis, and Sjögren's syndrome. *Am J Ophthalmol*, 140: 898–899.
7. Fujita M, Igarashi T, Kurai T, Sakane M, Yoshino S, Takahashi H. (2005) Correlation between dry eye and rheumatoid arthritis activity. *Am J Ophthalmol*, 140: 808-813.
8. Wangkaew S, Kasitanon N, Sivasomboon C, Wichainun R, Sukitawut W, Louthrenoo W. (2006) Sicca symptoms in Thai patients with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and scleroderma: a comparison with age-matched controls and correlation with disease variables. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 24: 213-221.
9. Kolozsvári BL, Petrovski G, Gogolák P, Rajnavölgyi É, Tóth F, Berta A, Fodor M. (2014) Association between mediators in the tear fluid and the severity of keratoconus. *Ophthalmic Res*, 51: 46-51.



10. Fodor M, Gogolák P, Rajnavölgyi E, Berta A, Kardos L, Módis L, Facskó A. (2009) Long-term kinetics of cytokine responses in human tears after penetrating keratoplasty. *J Interferon Cytokine Res*, 29: 375-380.
11. Nagy ZZS. A szaruhártya excimer lézeres kezelése. Nyomdacoop, Budapest 2001: 14-22.
12. Braun RJ, Gewecke NR, Begley CG, King-Smith PE, Siddique JI. (2014) A model for tear film thinning with osmolarity and fluorescein. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55: 1133-1142.
13. Kansky J, Bowling B. *Clinical Ophthalmology, a systematic approach 7th Edition*, Elsevier, Waltham 2011: 122.
14. Fodor M, Facskó A, Rajnavölgyi E, Hársfalvi J, Bessenyei E, Kardos L, Berta A. (2006) Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases. *Ophthalmic Res*, 38: 182-188.
15. Ehlers N. (1965) The precorneal film. *Biomicroscopical, histological and chemical investigations. Acta Ophthalmol*, 81(S): 1-134.
16. Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, Pepose JS, Baudouin C, Geerling G, Nichols KK, Lemp MA. (2014) Rethinking dry eye disease: a perspective on clinical implications. *Ocul Surf*, 12: 1-31.
17. Janoff M, Sassani JW. *Ocular Pathology*. Mosby Elsevier, Waltham, 2009: 256.
18. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, Tan AL, Doubrava MW, Kim CK. (1998) Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy. *Cornea*, 17: 485-492.
19. Popper M, Morgado AM, Quadrado MJ, Van Best JA. (2004) Corneal cell density measurement in vivo by scanning slit confocal microscopy: method and validation. *Ophthalmic Res*, 36: 270-276.
20. Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. (2009) In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea – a major review. *Clin Experiment Ophthalmol*, 37: 100–117.

21. Eckard A, Stave J, Guthoff RF. (2006) In vivo investigations of the corneal epithelium with the confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM). *Cornea*, 25: 127-131.
22. Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. *Atlas of Confocal Laser Scanning In vivo Microscopy in Ophthalmology - Principles and Applications in Diagnostic and Therapeutic Ophthalmology*. Springer-Verlag, Berlin 2006: 2-21.
23. Torricelli AA, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE. (2013) The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 27;54: 6390-6400.
24. Axelsson I, Heinegard D. (1975) Fractionation of proteoglycans from bovine corneal stroma. *Biochem J*, 145: 491-500.
25. Patel S, McLaren J, Hodge D, Bourne W. (2001) Normal human keratocyte density and corneal thickness measurement by using confocal microscopy in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42: 333-339.
26. Kabosova A, Azar DT, Bannikov GA, Campbell KP, Durbeej M, Ghohestani RF, Jones JC, Kenney MC, Koch M, Ninomiya Y, Patton BL, Paulsson M, Sado Y, Sage EH, Sasaki T, Sorokin LM, Steiner-Champlaud MF, Sun TT, Sundarraj N, Timpl R, Virtanen I, Ljubimov A. (2007) Compositional differences between infant and adult human corneal basement membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48: 4989-4999.
27. Bonanno JA. (2003) Identify and regulation of ion transport mechanism in the corneal endothelium *Prog ret Eye Res*, 22: 69-94.
28. Bourne WM. (2010) Corneal endothelium--past, present, and future. *Eye Contact Lens*, 36: 310-314.
29. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. (1997) Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 38: 779-782.
30. Ferrari G, Hajrasouliha AR, Sadrai Z, Ueno H, Chauhan SK, Dana R. (2013) Nerves and neovessels inhibit each other in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 54: 813-820.

31. Erdélyi B, Kraak R, Zhivov A, Guthoff R, Németh J. (2007) In vivo confocal laser scanning microscopy of the cornea in dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 245: 39-44.
32. Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. (2010) Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res*, 90: 478-492.
33. He J, Bazan NG, Bazan HE. (2010) Mapping the entire human corneal nerve architecture. *Exp Eye Res*, 91: 513-523.
34. Patel DV, McGhee CN. (2005) Mapping of the normal human corneal sub-basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46: 4485-4488.
35. Patel DV, McGhee CN. (2007) Contemporary in vivo confocal microscopy of the living human cornea using white light and laser scanning techniques: a major review. *Clin Experiment Ophthalmol*, 35: 71-88.
36. Imre L. (1999) Első hazai tapasztalatok konfokális corneamikroszkópiával. *Szemészet*, 136: 97-102.
37. Minsky M. (1988) Memoir on inventing the confocal scanning microscope. *Scanning*, 10: 128-138.
38. Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, Shields W, Lemp MA. (1990) Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J*, 16: 65-73.
39. Petrán M, Hadravsky M. (1986) Tandem scanning microscope-a new tool for three-dimensional microanatomy. *Prog Clin Biol Res*, 295: 551-558.
40. Petran M, Hadravsky M, Benes J, Boyde A. (1986) In vivo microscopy using the tandem scanning microscope. *Ann N Y Acad Sci*, 483: 440-447.
41. Svishchev GM. (1970) Image contrast in a microscope with synchronous object scanning by slit field diagrams. *Opt Spectrosc*, 30: 188-191.

42. Masters BR. (2004) David Maurice's contributions to optical ophthalmic instrumentation: roots of the scanning slit clinical confocal microscope. *Exp Eye Res*, 78: 315-326.
43. Koester CJ. (1980) Scanning mirror microscope with optical sectioning characteristics: applications to ophthalmology. *Appl Opt*, 19: 1749–1757.
44. Masters BR, Thaeer AA. (1994) Real-time scanning slit confocal microscopy of the in vivo human cornea. *Appl Opt*, 33: 695–701.
45. Villani E, Beretta S, De Capitani M, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. (2011) In vivo confocal microscopy of meibomian glands in Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52: 933–939.
46. Mastropasqua L, Agnifili L, Mastropasqua R, Fasanella V, Nubile M, Toto L, Carpineto P, Ciancaglini M. (2014) In vivo laser scanning confocal microscopy of the ocular surface in glaucoma. *Microsc Microanal*, 20: 879-894.
47. Villani E, Magnani F, Viola F, Santaniello A, Scorza R, Nucci P, Ratiglia R. (2013) In vivo confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye. *Optom Vis Sci*, 90: 576-586.
48. Villani E, Ceresara G, Beretta S, Magnani F, Viola F, Ratiglia R. (2011) In vivo confocal microscopy of meibomian glands in contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 13: 5215-5219.
49. Knop E, Knop N, Zhivov A, Kraak R, Korb DR, Blackie C, Greiner JV, Guthoff R. (2011) The lid wiper and muco-cutaneous junction anatomy of the human eyelid margins: an in vivo confocal and histological study. *J Anat*, 218: 449-461.
50. 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.
51. Lin H, Li W, Dong N et al (2010) Changes in corneal epithelial layer inflammatory cells in aqueous tear-deficient dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51: 122-128.

52. Zhivov A, Stave J, Vollmar B and Guthoff R. (2005) In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cells density and distribution in the normal corneal epithelium. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243: 1056–1061.
53. Knop E, Knop N. (2005) The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. *J Anat*, 206: 271-285.
54. Goyal S, Chauhan SK, El Annan J, Nallasamy N, Zhang Q, Dana R. (2010) Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Arch Ophthalmol*. 128: 819-824.
55. Saban DR, Bock F, Chauhan SK, Masli S, Dana R. (2010) Thrombospondin-1 derived from APCs regulates their capacity for allosensitization. *J immunol*. 185: 4691-4697.
56. Amparo F, Dastjerdi MH, Okanobo A, Ferrari G, Smaga L, Hamrah P, Jurkunas U, Schaumberg DA, Dana R. (2013) Topical interleukin 1 receptor antagonist for treatment of dry eye disease: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 131: 715-723.
57. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, Green DR, Ferguson TA. (1995) Fas ligand induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science*, 270: 1189-1192.
58. Hamrah P, Huq OS, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. (2003) Corneal immunity is mediated by heterogenous population of antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol*, 73: 172–178.
59. Hamrah P, Liu Y, Zhang Q and Dana MR. (2003) Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol*, 121: 1132–1140.
60. Dana R, Dai R, Zu S, Yamada Y, Streilein JW. (1998) Interleukin-1 receptor antagonist suppresses Langerhans cell activity and promotes ocular immune privilege. *Invest Ohpthalmol Vis Sci* 1998; 39: 70-77.
61. Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. (2012) Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol*. 130: 90-100.

62. Dartt AD, Dana R, D'Amore P, Niederkorn J. Immunology, Inflammation and Diseases of the Eye. Academic Press, Elsevier, Waltham, 2011: 50-57.
63. Seto SK, Gillette TE and Chandler JW. (1987) HLA-DR+/T6- Langerhans cells of the human cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci, 28: 1719–1722.
64. Hamrah P and Dana MR. (2007) Corneal antigen-presenting cells. Chem Immunol Allergy, 92: 58–70. Gillette TE, Chandler JW and Greiner JV. (1982) Langerhans cells of the ocular surface. Ophthalmology, 89: 700–711.
65. Hattori T, Chauhan SK, Lee H, Ueno H, Dana MR. (2011) Characterization of Langerin-expressing dendritic cell subsets in the normal cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci, 52: 4598-4604.
66. Romani N, Clausen BE, Stoitzner P. (2010) Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. Immunol Rev. 234: 120-141.
67. Mc Dermott R, Ziylan U, Spohner D, Bausinger H, Lipsker D, Mommaas M, Cazenave JP, Raposo G, Goud B, de la Salle H, Salamero J, Hanau D. (2002) Birbeck granules are subdomains of endosomal recycling compartment in human epidermal Langerhans cells, which form where Langerin accumulates. Mol Biol Cell, 13: 317-335.
68. Gillette TE, Chandler JW and Greiner JV. (1982) Langerhans cells of the ocular surface. Ophthalmology, 89: 700–711.
69. Niederkorn JY, Peeler JS, Mellon J. (1989) Phagocytosis of particulate antigens by corneal epithelial cells stimulate interleukin-1 secretion and migration of Langerhans cells into the central cornea. Reg Immunol, 2: 83–90.
70. Dekaris I, Zhu SN and Dana MR. (1999) TNF-alpha regulates corneal Langerhans cell migration. J Immunol, 162: 4235–4239.
71. Lemp AM, Baudouin C, Baum J, Dogru M, Foulks GN, Kinoshita S, Laibson P, McCulley J, Murube J, Pflugfelder SC, Rolando M, Toda I. (2007) The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International dry Eye Workshop. Ocul Surf, 5: 75-92.

72. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. (2002) Epidemiology of dry eye syndrome. *Adv Exp Med Biol*, 506: 989-998.
73. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. (2009) Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol*, 127: 763-768.
74. Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. (1999) Results of a population-based questionnaire on the symptoms and lifestyles associated with dry eye. *Cornea*, 18: 408-411.
75. Buchholz P, Steeds CS, Stern LS, Wiederkehr DP, Doyle JJ, Katz LM, Figueiredo FC. (2006) Utility assessment to measure the impact of dry eye disease. *Ocul Surf*, 4: 155-161.
76. Reksten TR, Jonsson MV. (2014) Sjögren's syndrome: an update on epidemiology and current insights on pathophysiology. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 26: 1-12.
77. Viso E, Gude F, Rodriguez-Ares MT. (2011) The association of meibomian gland dysfunction and other common ocular diseases with dry eye: a population-based study in Spain. *Cornea*, 30: 1-6.
78. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. (2004) The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea*. 23: 762-770.
79. Berta A. (1991) A Sjögren-szindróma koppenhágai kritériumai. *Szemészet*, 128: 76-78.
80. Manthorpe R., Oxholm P, Prause JU, Schiöde M. (1986) The Copenhagen criteria for Sjögren's syndrome. *Scand J Rheum*, 61(S): 19-21.
81. Németh J., Pokorny Gy. (1985) A Sjögren-szindróma klasszikus szemészeti tesztjei. *Szemészet*, 122: 70-75.
82. Murube J, Benitez del Castillo JM, Chenzhuo L, Berta A, Rolando M. (2003) The Madrid triple classification of dry eye. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 78: 587-594.

83. Murube J, Németh J, Höh H, Kaynak-Hekimhan P, Horwath-Winter J, Agarwal A, Baudouin C, Benitez del Castillo JM, Cervenka S, Chenzhuo L, Ducasse A, Durán J, Holly F, Javate R, Nepp J, Paulsen F, Rahimi A, Raus P, Shalaby O, Sieg P, Soriano H, Spinelli D, Ugurbas SH, Van Setten G. (2005) The triple classification of dry eye for practical clinical use. *Eur J Ophthalmol*, 15: 660-667.
84. Németh J, Fodor E, Lang Z, Kosina-Hagyó K, Berta A, Komár T, Petricek I, Higazy M, Prost M, Grupcheva C, Kemer OE, Schollmayer P, Samaha A, Hlavackova K. (2012) Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *Br J Ophthalmol*, 96: 1380–1385.
85. Vajzovic LM, Karp CL, Haft P, Shousha MA, Dubovy SR, Hurmeric V, Yoo SH, Wang J. (2011) Ultra high-resolution anterior segment optical coherence tomography in the evaluation of anterior corneal dystrophies and degenerations. *Ophthalmology*, 118: 1291–1296.
86. Szalai E, Berta A, Szekanecz Z, Szûcs G, Módis L Jr. (2012) Evaluation of tear osmolarity in non-Sjögren and Sjögren syndrome dry eye patients with the TearLab system. *Cornea*, 31: 867-871.
87. Fodor E, Kosina-Hagyó K, Bausz M, Németh J. (2011) Increased tear osmolarity in patients with severe cases of conjunctivochalasis. *Curr Eye Res*, 37: 80-84.
88. Ballow M, Donshik PC, Rapaz P, Samartino L. (1987) Tear lactoferrin levels in patients with external inflammatory ocular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 28: 543-545.
89. Jenssen H, Hancock RE. (2009) Antimicrobial properties of lactoferrin. *Biochimie*, 91: 19-29.
90. Conneely OM. (2001) Anti-inflammatory properties of lactoferrin. *J Am Coll Nutr*, 20 (5 Suppl): 389S-395S.
91. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. (2000) Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol*, 118: 615–621.



92. Dougherty BE, Nichols JJ, Nichols KK. (2011) Rasch analysis of the Ocular Surface Disease Index (OSDI). *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52: 8630-6835.
93. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R, Dalton DS. (2014) Dry eye in the beaver dam offspring study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *Am J Ophthalmol*, 157: 799-806.
94. Lemp AM. (2008) Management of dry eye disease. *Am. J. Manag. Care* 14 (3 Suppl.), S88—S101.
95. Petricek I, Berta A, Higazy MT, Németh J, Prost ME. (2008) Hydroxypropyl-guar gellable lubricant eye drops for dry eye treatment. *Expert Opin. Pharmacother*, 9: 1431-1436.
96. Pflugfelder SC. (2004) Antiinflammatory therapy for dry eye. *Am. J Ophthalmol*, 137: 337-342.
97. Qiao J, Yan X. (2013) Emerging treatment options for meibomian gland dysfunction. *Clin Ophthalmol*, 7: 1797-1803.
98. Maskin SL. (2010) Intraductal meibomian gland probing relieves symptoms of obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea*, 29: 1145-1152.
99. Kodati S, Chauhan SK, Chen Y, Dohlman TH, Karimian P, Saban D, Dana R. (2014) CCR7 is critical for the induction and maintenance of Th17 immunity in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 55: 5871-5877.
100. Dohlman TH, Chauhan SK, Kodati S, Hua J, Chen Y, Omoto M, Sadrai Z, Dana R. (2013) The CCR6/CCL20 axis mediates Th17 cell migration to the ocular surface in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 54: 4081-4091.
101. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA and Gipson IK. (2000) Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch. Ophthalmol*, 118: 1489–1496.

102. Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, De Paiva CS, Corrales RM, Gao J, and Siemasko K. (2006) Desiccating stress induces T cell-mediated Sjögren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J. Immunol*, 176: 3950–3957.
103. Jin Y, Shen L, Chong EM, Hamrah P, Zhang Q, Chen L, Dana MR. (2007) The chemokine receptor CCR7 mediates corneal antigen-presenting cell trafficking. *Mol Vis*. 13: 626-634.
104. Chauhan SK, El Annan J, Ecoiffier T, Goyal S, Zhang Q, Saban DR, Dana R. (2009) Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression. *J Immunol*, 182: 1247-1252.
105. Schaumburg CS, Siemasko KF, De Paiva CS, Wheeler LA, Niederkorn JY, Pflugfelder SC, Stern ME. (2011) Ocular surface APCs are necessary for autoreactive T cell-mediated experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol*, 187: 3653–3662.
106. Mikuls R. Tedd: Rheumatoid Arthritis Incidence: What Goes Down Must Go Up? (2010) *Arthritis and Rheumatism*, 62: 1565–1567.
107. Poór Gy. A rheumatoid arthritis és egyéb synovialis megbetegedések. A reumatológia tankönyve. Medicina; Budapest 2008: 127-153.
108. Himer L, Balog A, Szebeni B, Nagy Szakáll D, Sziksz E, Reusz Gy, Tulassay T, Vannay A. (2010) A Th17 sejtek szerepe rheumatoid arthritisben. *Orvosi Hetilap*, 151: 1003-1010.
109. Klareskog L, Padyukov L, Ronnelid J, Alfredsson L. (2006) Genes, environment and immunity in the development of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Immunol*, 18: 650-655.
110. Pincus T, Brooks RH, Callahan LF. (1994) Prediction of long-term mortality in patients with rheumatoid arthritis according to simple questionnaire and joint count measures. *Ann Intern Med*, 120: 26-34.

111. Dean LE, Jones GT, MacDonald AG, Downham C, Sturrock RD, Macfarlane GJ. (2014) Global prevalence of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*, 53: 650-657.
112. Khan MA, Kushner I, Braun WE. (1977) Comparison of clinical features of HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*, 20: 909–912.
113. Hacquard-Bouder C, Ittah M, Breban M. (2005) Animal models of HLA-B27 associated diseases: new outcomes. *Joint Bone Spine*, 73: 132-138.
114. Braun J, Sieper J. (2007) Ankylosing spondylitis. *Lancet*, 9570: 1379–1390.
115. Linder R, Hoffmann A, Brunner R. (2004) Prevalence of the spondyloarthritides in patients with uveitis. *J Rheumatol*, 31: 2226–2229.
116. Monnet D, Breban M, Hudry C, Dougados M, Brézin AP. (2004) Ophthalmic findings and frequency of extraocular manifestations in patients with HLAB27 uveitis: a study of 175 cases. *Ophthalmology*, 111: 802–809.
117. Kobak S, Kobak AC, Kabasakal Y, Doganavsargil E. (2007) Sjögren's syndrome in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol*, 26: 173–175.
118. Livingston B, Bonner A, Pope J. (2011) Differences in clinical manifestations between childhood-onset lupus and adult-onset lupus: a meta-analysis. *Lupus*, 20:1345-1355.
119. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. (2006) Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus*, 15:308-318.
120. Uramoto KM, Michet CJ Jr, Thumboo J, Sunku J, O'Fallon WM, Gabriel SE. (1999) Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum*, 42:46-50.
121. Rahman A, Isenberg DA. (2008) Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*, 358:929-939.

122. Hahn BH, Karpouza GA, Tsao BP. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 7th ed. Philadelphia, WB Saunders, 2005:1174-1200.
123. Hochberg MC. (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 40: 17-25.
124. Balog A, Szalay B. (2011) Jelenlegi és a közeljövőben várható terápiás célpontok a reumatoid arthritis kezelésében. 1. rész. *Figyelő*, 1: 11-13.
125. Vivar N, Van Vollenhoven RF. (2014) Advances in the treatment of rheumatoid arthritis. *F1000 Prime Rep*, 6: 31.
126. Arora A, Mahajan A, Spurden D, Boyd H, Porter D. (2013) Long-Term Drug Survival of TNF Inhibitor Therapy in RA Patients: A Systematic Review of European National Drug Registrars. *Int J Rheumatol*, 2013: 764518. doi: 10.1155/2013/764518.
127. Quigley HA, Broman AT. (2006) The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol*, 90: 262–267.
128. The Eye Diseases Prevalence Research Group. (2004) Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol*, 122: 532–538.
129. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. (1991) Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma: the Baltimore Eye survey. *JAMA*, 266: 369–374.
130. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. (2014) Global Prevalence of Glaucoma and Projections of Glaucoma Burden through 2040: A Systematic Review and Meta-Analysis *Ophthalmology*, doi:10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
131. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, Mariotti SP. (2004) Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ*, 82: 844-851.

132. Németh J, Frigyik A, Vastag O, Göcze P, Pető T, Elek I. (2005) Vaksági okok Magyarországon 1996 és 2000 között. *Szemészet*, 142: 127-133.
133. Heijl A, Traverso CE, Azuara-Blanco A, Gandolfi S, Grehn F, Holló G, Hommer A, Lester M, Migdal C, Thygesen J, Topouzis F. Ajánlások a glaukóma terminológiájára és kezelésére. *Dogma*, Savona, 2009:14.
134. Varga M, Follmann P. (1986) Ultrastructural studies of the conjunctival surface following long-term treatment with timolol. *Fortschr Ophthalmol*, 83:155-157.
135. Follmann P, Turi E. (1980) Glaucoma and the dry eye syndrome. *Klin Monbl Augenheilkd*, 176: 147-152.
136. Holló G, Topouzis F, Fechtner RD. (2014) Fixed-combination intraocular pressure-lowering therapy for glaucoma and ocular hypertension: advantages in clinical practice. *Expert Opin Pharmacother*, 15: 1737-1747.
137. Holló G. (2007) The side effects of the prostaglandin analogues. *Expert Opin Drug Saf*, 6: 45-52.
138. Rosin LM, Bell NP. (2013) Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0.5% timolol eye drops. *Clin Ophthalmol*, 7: 2131-2135.
139. Aptel F, Cucherat M, Denis P. (2008) Efficacy and tolerability of prostaglandin analogs: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *J Glaucoma*, 17:667-673.
140. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, Daniels TE, Fox PC, Fox RI, Kassan SS, Pillemer SR, Talal N, Weisman MH. (2002) European Study Group on Classification Criteria for Sjogren's Syndrome. Classification criteria.
141. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus

T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. (2010) Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 62: 2569–2581.

142. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. (1984) Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum*, 27: 361–368.

143. Pult H, Purslow C, and Murphy PJ. (2011) The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye*, 25: 502-510. .

144. Marsovszky L, Resch MD, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2013) In vivo confocal microscopic evaluation of corneal Langerhans cell density, and distribution and evaluation of dry eye in rheumatoid arthritis. *Innate Immun*, 19: 348-354.

145. Marsovszky L, Resch MD, Visontai Z, Németh J. (2014) Confocal microscopy of epithelial and Langerhans cells of the cornea in patients using travoprost drops containing two different preservatives. *Pathol Oncol Res*. 20: 741-746.

146. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Del Papa N, Ratiglia R. (2008) Corneal involvement in rheumatoid arthritis: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 49: 560-564.

147. Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. (2003) Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol*, 12: 1132-1140.

148. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. (2007) In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers. *Cornea*, 26: 47-54.

149. Lin H, Li W, Dong N, Chen W, Liu J, Chen L, Yuan H, Geng Z, Liu Z. (2010) Changes in corneal epithelial layer inflammatory cells in aqueous tear-deficient dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51: 122-128.

150. Kawamoto K, Chikama T, Takahashi N, Nishida T. (2009) In vivo observation of Langerhans cells by laser confocal microscopy in Thygeson's superficial punctate keratitis. *Mol Vis*, 29: 1456–1462.
151. Chen W, Lin H, Dong N, Sanae T, Liu Z, Yoshitomi T. (2010) Cauterization of central cornea induces recruitment of major histocompatibility complex class II + Langerhans cells from limbal basal epithelium. *Cornea*, 29: 73–79.
152. Dana R. (2007) Comparison of topical interleukin-1 vs tumor necrosis factor-alpha blockade with corticosteroid therapy on murine corneal inflammation, neovascularization, and transplant survival. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 105: 330-343.
153. Campelo SR, Da Silva MB, Vieira JL, Da Silva JP, Salgado CG. (2011) Effects of immunomodulatory drugs on TNF- $\alpha$  and IL-12 production by purified epidermal langerhans cells and peritoneal macrophages. *BMC Res Notes*; 28:24.
154. Sohar N, Hammer H, Sohar I. (2002) Lysosomal peptidases and glycosidases in rheumatoid arthritis. *Biol Chem*, 383; 865-869. .
155. Rodríguez-Fernández JL. (2013) Antigen presentation by dendritic cells in rheumatoid arthritis. *Curr Top Med Chem*, 13: 712-719.
156. Choudhary MM, Hajj-Ali RA, Lowder CY. (2014) Gender and ocular manifestations of connective tissue diseases and systemic vasculitides. *J Ophthalmol*. 2014;403042.
157. Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Wei Y, Asbell PA. (2009) Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea*, 28: 1023–1027.
158. Pitcher JD 3rd, De Paiva CS, Pelegrino FS, McClellan AJ, Raince JK, Pangelinan SB, Rahimy E, Farley WJ, Stern ME, Li DQ, Pflugfelder SC. (2011) Pharmacological cholinergic blockade stimulates inflammatory cytokine production and lymphocytic infiltration in the mouse lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52: 3221–3227.

159. Laval SH, Timms A, Edwards S, Bradbury L, Brophy S, Milicic A, Rubin L, Siminovitch KA, Weeks DE, Calin A, Wordsworth BP, Brown MA. (2001) Whole-genome screening in ankylosing spondylitis: evidence of non-MHC genetic-susceptibility loci. *Am J Hum Genet*, 68: 918–926.
160. Ortak H, Inanir A, Demir S, Uysal A, Şahin Ş, Sağcan M, Önder Y, Alim S, Demir AK. (2014) Decreased central corneal thickness in ankylosing spondylitis. *Int Ophthalmol*, 34: 263-268.
161. Villani E, Galimberti D, Del Papa N, Nucci P, Ratiglia R. (2013) Inflammation in dry eye associated with rheumatoid arthritis: cytokine and in vivo confocal microscopy study. *Innate Immun*, 19:420-427.
162. Lee SY, Han SJ, Nam SM, Yoon SC, Ahn JM, Kim TI, Kim EK, Seo KY. (2013) Analysis of tear cytokines and clinical correlations in Sjögren syndrome dry eye patients and non-Sjögren syndrome dry eye patients. *Am J Ophthalmol*, 156: 247-253.
163. Davies JB, Rao PK. (2008) Ocular manifestations of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Ophthalmol*, 19: 512-518.
164. Peponis V, Kyttaris VC, Tyradellis C, Vergados I, Sitaras NM. (2006) Ocular manifestations of systemic lupus erythematosus: a clinical review. *Lupus*, 15:3-12.
165. Manoussakis, C. Georgopoulou, E. Zintzaras E, Spyropoulou M, Stavropoulou A, Skopuoli FN, Moutsopoulos HM. (2004) “Sjögren's syndrome associated with systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory profiles and comparison with primary sjögren's syndrome,” *Arthritis and Rheumatism*, 50: 882–891.
166. Karpik AG, Schwartz MM, Dickey LE, Streeten BW, Roberts JL. (1985) Ocular immune reactants in patients dying with systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol*, 35: 295-312.
167. Cigni A, Pileri PV, Faedda R, Gallo P, Sini A, Satta AE, Marras R, Carta E, Argiolas D, Rum I, Masala A. (2014) Interleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, and tumor necrosis factor  $\alpha$  in active and quiescent systemic lupus erythematosus. *J Investig Med*, 62: 825-829.



168. Cordero-Coma M, Anzaar F, Sobrin L, Foster CS. (2007) Systemic immunomodulatory therapy in severe dry eye secondary to inflammation. *Ocul Immunol Inflamm*, 15: 99-104.
169. Gilboe IM, Kvien TK, Uhlig T, Husby G. (2001) Sicca symptoms and secondary Sjögren's syndrome in systemic lupus erythematosus: comparison with rheumatoid arthritis and correlation with disease variables. *Ann Rheum Dis*, 60: 1103-1109.
170. Ammar DA, Kahook MY. (2011) Effects of benzalkonium chloride- or polyquad-preserved fixed combination glaucoma medications on human trabecular meshwork cells. *Mol Vision*, 17: 1806-1813. .
171. Noecker RJ, Herrygers LA, Anwaruddin R. (2004) Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications. *Cornea*, 23: 490-496.
172. Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, Traversi C, Mittica V, Malandrini A, Pichierri P, Balestrazzi A, Motolese PA, Motolese I, Motolese E. (2009) An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology. *Am J Ophthalmol*, 147: 725-735. .
173. Epstein SP, Chen D, Asbell PA. (2009) Evaluation of biomarkers of inflammation in response to benzalkonium chloride on corneal and conjunctival epithelial cells. *J Ocul Pharmacol and Ther*, 25: 415-424.
174. Horsley MB, Kahook MY. (2009) Effects of prostaglandin analog therapy on the ocular surface of glaucoma patients. *Clin Ophthalmol*, 3: 291-295.
175. Labbé A, Pauly A, Liang H, Brignole-Baudouin F, Martin C, Warnet JM, Baudouin C. (2006) Comparison of toxicological profiles of benzalkonium chloride and polyquaternium-1: an experimental study. *J Ocul Pharmacol*, 22:267-278.
176. Baratz KH, Nau CB, Winter EJ, McLaren JW, Hodge DO, Herman DC, Bourne WM. (2006) Effects of glaucoma medications on corneal endothelium, keratocytes, and subbasal nerves among participants in the Ocular Hypertension Treatment Study. *Cornea*, 25:1046-1052.

177. Guenoun JM, Baudouin C, Rat P, Pauly A, Warnet JM, Brignole-Baudouin F. (2005) In vitro comparison of cytoprotective and antioxidative effects of latanoprost, travoprost, and bimatoprost on conjunctiva-derived epithelial cells. *Inv Opth Vis Sci*, 46:4594-4599.
178. Whitson JT, Petroll WM (2012) Corneal epithelial cell viability following exposure to ophthalmic solutions containing preservatives and/or antihypertensive agents. *Adv Ther*, 29: 874–888.
179. Liang H, Brignole-Baudouin F, Riancho L, Baudouin C (2012) Reduced in vivo ocular surface toxicity with polyquad-preserved travoprost versus benzalkonium-preserved travoprost or latanoprost ophthalmic solutions. *Ophthalmic Res*, 48: 89–101. .
180. Paimela T, Ryhänen T, Kauppinen A, Marttila L, Salminen A, Kaarniranta K (2012) The preservative polyquaternium-1 increases cytotoxicity and NFkappaB linked inflammation in human corneal epithelial cells. *Mol Vis*, 18: 1189–1196.
181. Liang H, et al (2011) Toxicological evaluation of preservative-containing and preservative-free topical prostaglandin analogues on a three-dimensional-reconstituted corneal epithelium system. *Br J Ophthalmol*. 95: 869-875.
182. Ranno S, Fogagnolo P, Rossetti L, Orzalesi N, Nucci P. (2011) Changes in corneal parameters at confocal microscopy in treated glaucoma patients. *Clinical Ophthalmology*, 5: 1037–1042.
183. Gery I, Davies P, Derr J, Krett N, and Barranger J. A. (1981) Relationship between production and release of lymphocyte-activating factor (interleukin-1) by murine macrophages: I. Effects of various agents. *Cell Immunol*, 64: 293-303. .
184. Fechtner RD, Godfrey DG, Budenz D, Stewart JA, Stewart WC, Jasek MC. (2010) Prevalence of ocular surface complaints in patients with glaucoma using topical intraocular pressure-lowering medications. *Cornea*, 29: 618-621. .
185. Pisella PJ, Pouliquen P, Baudouin C (2002) Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative-free glaucoma medications. *Br J Ophthalmol*, 86: 418–423. .

186. Terai N, Müller-Holz M, Spoerl E, Pillunat LE. (2011) Short-term effect of topical antiglaucoma medication on tear-film stability, tear secretion, and corneal sensitivity in healthy subjects. *Clin Ophthalmol*, 5:517-525.

## **11. Saját publikációk jegyzéke**

### **11.1. A disszertáció témájával kapcsolatos közlemények**

**Marsovszky L**, Resch MD, Visontai Zs, Németh J. (2014) Confocal microscopy of epithelial and Langerhans cells of the cornea in patients using travoprost drops containing two different preservatives. *Pathol Oncol Res*, 20: 741-746.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Kovács L, Balog A. (2013) Corneal Langerhans cell and dry eye examinations in ankylosing spondylitis. *Innate Immunity*, 20: 471-477.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2013) In vivo Confocal microscopy of corneal Langerhans cell density and distribution and evaluation of dry eye in rheumatoid arthritis. *Innate Immunity*, 19: 348-354.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2011) Corneális Langerhans sejt vizsgálatok rheumatoid arthritisben: In vivo konfokális mikroszkópos tanulmány. *Szemészet*, 148: 107-112.

### **11.2. A disszertáció témájával kapcsolatos idézhető előadáskivonatok**

**Marsovszky L**, Németh J, Resch M, Toldi G, Legány N, Kovács L, Balog A. (2013) Corneal Langerhans cell and dry eye examinations in ankylosing spondylitis. *Acta Ophthalmol*, 91: S252.

**Marsovszky L**, Balog A, Németh J, Kovács J, Resch M. (2013) Corneális Langerhans-sejt vizsgálatok spondylitis ankylopoetica-ban. Magyar Szemorvostársaság kongresszusa. *Szemészet*, 150: S90.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2013) Corneális Langerhans-sejt vizsgálatok gyulladáshoz kapcsolódó rheumatológiai kórképekben, spondylitis ankylopoetica-ban. *Magyar Reumatológia*, 54: 147.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2012) In vivo confocal microscopic evaluation of corneal Langerhans cell density, distribution and evaluation of dry eye in rheumatoid arthritis. *Acta Ophthalmol*, 90: S249.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J, Toldi G, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2012) Corneális Langerhans-sejt vizsgálatok rheumatoid arthritisben: In vivo konfokális mikroszkópos tanulmány. Magyar Reumatológia, 48: 134.

Resch M, **Marsovszky L**, Németh J, Medgyesi E, Kovács L, Balog A. (2012) In vivo confocal microscopy of corneal Langerhans cells in systemic lupus erythematosus (SLE) without ocular surface manifestation. Invest Ophthalmol Vis Sci 53: 6185 ARVO E-Abstract.

**Marsovszky L**, Resch M, Visontai Zs, Németh J. (2012) A száraz szem és a cornea vizsgálata kétféle tartósítószeret tartalmazó travoprost esetében. Szemészet, 149: S23-24.

**Marsovszky L**, Resch M, Balog A, Winkler V, Juhász P, Németh J. (2011) Corneális Langerhans-sejtek vizsgálata rheumatoid arthritisben: in vivo konfokális mikroszkópos tanulmány. Szemészet, 148: S107-112.

### **11.3. A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények**

Resch MD, Takáts J, Csákány B, Maneschg O, **Marsovszky L**, Szabó A, Papp A, Németh J. (2014) Retinal thickness measurements with optical coherence biometry and optical coherence tomography. Spektrum Augenheilkd, 28: 121–125.

**Marsovszky L**, Sziklai P. (2014) Georg Joseph Beer születésének 250. évfordulójára. Szemészet, 151: 41-44.

**Marsovszky L**. (2013) A hályogoperálás története Magyarországon. Orvosi Hetilap, 45: 1802-1805.

**Marsovszky L**, Maneschg O, Nemeth J, Resch MD. (2011) Hornhaut Konfokal-Mikroskopie bei einer bilateralen Augenverletzung mit multiplen kornealen Fremdkörpern [Confocal microscopy after multiple corneal foreign body injury] Spektrum Augenheilkd, 25: 231-233.

#### **11.4. A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó idézhető előadás-kivonatok**

**Marsovszky L**, Bausz M, Németh N, Resch M. (2014) Investigation of anterior chamber flare and corneal Langerhans cells in rheumatoid arthritis and in dry eye. *Acta Ophthalmol*, 92: S253.

**Marsovszky L**, Zemova E, Bauer F, Daas L, Pattmöller M, Szentmary N, El-Husseiny M, Seitz B, Németh J, Resch M. (2014) A szaruhártya biomechanikai tulajdonságai femto és excimer lézer trepanációval végzett keratoplasztika után. *Szemészet*, 151: S40-41.

Resch M, **Marsovszky L**, Budai-Szűcs M, Berkó Sz, Sípos P, Németh J, Szabó-Révész P, Csányi E. (2013) Does cyclodextrin affect penetration of diclofenac sodium through amniotic membrane? *Acta Ophthalmol*, 91: S252.

Popper M, **Marsovszky L**, Bausz M, Dohán J, Kerek A, Kóthy P, Nagy ZZ, Resch M, Szigeti A, Németh J. (2012) Posner-Schlossman szindrómás betegek vizsgálata in vivo konfokális corneamikroszkópiával. *Szemészet*, 149: S64-65.

**Marsovszky L**, Resch M, Németh J. (2010) Kétoldali multiplex corneális idegentest sérülés hosszútávú követése konfokális corneamikroszkóppal (esetismertetés). *Magyar Szemorvostársaság Kongresszusa. Szemészet*, 147: S104-105.

**Marsovszky L**, Kerényi Á. (2005) Behcet-betegség. *Szemészet*, 142: S109.

## **12. Köszönetnyilvánítás**

Köszönettel tartozom Németh János professzor úrnak, akinek a töretlen támogatása nélkül a kutatómunka nem valósulhatott volna meg.

Hálával és köszönettel tartozom dr. Kovács László tanár úrnak, a Szegedi Reumatológiai Klinika vezetőjének a közös kutatásban végzett munkájáért és odaadó támogatásáért.

Külön köszönet illeti meg dr. Balog Attila és dr. Resch Miklós adjunktus urakat, akik a konzulensi feladatkörön túlmutatva segítettek és igaz barátként támogatták törekvéseimet, és lehetővé tették, hogy ez az értekezés elkészüljön.

További köszönettel tartozom:

Süveges Ildikó professzor asszonynak és Nagy Zoltán Zsolt professzor úrnak az értekezés szerkezeti, stilisztikai és tudományos tartalmának javításában kifejtett munkájáért.

Dr. Toldi Gergőnek a statisztikai számítások terén végzett munkájáért.

Végül köszönettel tartozom kedves feleségemnek és szüleimnek a kitartásukért és támogató szeretetükért.