

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A HUMÁN SZARUHÁRTYA KONTAKT SPEKULÁR MIKROSZKÓPPAL  
TÖRTÉNŐ VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI ÉS KLINIKAI JELENTŐSÉGE**

Dr. Kettesy Andrea Beáta

Témavezető: Dr. Kemény-Beke Ádám



**DEBRECENI EGYETEM**  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2015

# **A HUMÁN SZARUHÁRTYA KONTAKT SPEKULÁR MIKROSZKÓPPAL TÖRTÉNŐ VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI ÉS KLINIKAI JELENTŐSÉGE**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Kettesy Andrea Beáta szemész szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája  
(Klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Dr. Kemény-Beke Ádám, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora  
tagok: Dr. Dezső Balázs, kandidátus  
Dr. Végh Mihály, kandidátus

A doktori szigorlat időpontja: 2015. november 27. 11.00 DE ÁOK Szülészeti és  
Nőgyógyászati Intézet könyvtára

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Bíró Tamás, az MTA doktora  
Dr. Hidasi Vanda, PhD

A doktori védési bizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora  
opponensek: Prof. Dr. Bíró Tamás, az MTA doktora  
Dr. Hidasi Vanda, PhD

tagok: Dr. Dezső Balázs, kandidátus  
Dr. Végh Mihály, kandidátus

Az értekezés védésének időpontja: 2015. november 27. 13.30 DE ÁOK Belgyógyászati  
Intézet "A" épület tanterme

## BEVEZETÉS ÉS ELMÉLETI HÁTTÉR

A szaruhártya a szemgolyó rostos burkának elülső, külvilág felé eső része, amely óraüvegszerűen illeszkedik a sclerához. Görbületi sugara 7.6-7.8 mm, a szem ösztörőerejéből 42-44 dioptria (D) törőerőt jelent. Átmérője egészséges felnőtt emberben horizontálisan átlagosan 11.5 mm, vertikálisan 11 mm. Vastagsága centrálisan átlagosan 540  $\mu\text{m}$ , amely a limbus felé vastagszik. Születés után a cornea fejlődése még nem fejeződik be: jellemzőit, méreteit 1 és 2 éves kor között éri el.

Öt rétege közül 5-6 sor el nem szarusodó laphámsejt alkotja a külvilág felé eső epitheliumot, amelyet bazális membrán választ el a sejtmentes Bowman-membrántól. A stroma adja a szaruhártya vastagságának 90%-át, amelyet szabályosan rendeződött kollagénrostok, ezen rostok között pedig proteoglikánok, illetve keratocyták alkotnak. A Descemet-membrán a cornea legbelső rétegét alkotó endothelsejtek bazális membránja. Az egy sorban elhelyezkedő hatszögletű endothelsejtek zonula occludensszel kapcsolódnak egymáshoz. Ezen sejtek kettős feladatot látnak el, egyrészt barriert képeznek a csarnokvíz felől a stroma felé, másrészt aktív pumpamechanizmussal dehidrált állapotban tartják a szaruhártyát, lehetővé téve annak transzparenciáját. A humán cornea endothelsejtei in vivo osztódásra nem képesek, számuk az életkor előrehaladtával fokozatosan csökken, a csökkenés mértéke évente mintegy 0.22-1%. Amennyiben az endothelsejtek sűrűsége egy kritikus érték alá csökken, akkor a szaruhártya integritása sérül, ödémássá válik, elveszti átlátszóságát, következményes látásromlás alakul ki. Ennek fiziológiai alapja, hogy a csökkent számú endothelsejtek között csarnokvíz áramlik a stromába, amit az aktív transzporttal rendelkező sejtek már nem képesek visszajuttatni az elülső csarnokba. Az endothelsejtek sűrűségét  $\text{mm}^2$ -ben adjuk meg. Egy felnőtt ember corneája átlagosan 2700-2900 endothelsejtet tartalmaz  $\text{mm}^2$ -enként. A sejtszám csökkenéséhez vezethet a normális öregedés (75 éves korban már csak mintegy 2400-2600 endothelsejt/ $\text{mm}^2$  az átlagos sejtsűrűség), szemmegnyitó műtét, trauma, glaucoma, kontaktlencse-viselet, Fuchs dystrophia és anyagcsere betegségek, pl. diabetes mellitus. A normális cornea dekompenzációja abban az esetben következhet be, amennyiben az endothelsejtek száma 1000 sejt/ $\text{mm}^2$  alá csökken.

A normális cornea nem tartalmaz ereket. A széli részek anyagcseréje a limbus körüli conjunctivális érrendszer széli hurokhálózatán és a ciliáris érrendszer sclerális erein keresztül, valamint a csarnokvíz felől diffúzió útján zajlik. A cornea hámja az oxigént a levegőből nyeli el.

A szaruhártya vizsgálata rutinszerűen réslámpával történik. A fent részletezett struktúrákat azonban részleteiben és kvantitatívan nem lehet a réslámpával pontosan vizsgálni,

mert a műszernek nincs akkora optikai felbontóképessége. A napjainkban egyre inkább elterjedő modern képalkotó műszerek lehetővé teszik a szaruhártya részletes, rétegenkénti vizsgálatát. A spekulár mikroszkópia lehetőséget nyújt a szaruhártya vastagságának mérésére és endotheliumának in vivo strukturális és funkcionális vizsgálatára non-invazív módon.

Az endothelsejt-sűrűség fontos markere a cornea egészségi állapotának. Számos betegség, trauma, illetve kémiai anyag vezethet a sejtszám csökkenéséhez. A sejtek átlagos mérete az egyik jelzője a sejtszám csökkenésének. A variációs koefficiens (sejterület standard deviációja/átlagos sejterület) a sejtek méretbeli változatosságát írja le, ami hosszú ideig tartó kontaktlencse-viselet illetve diabetes mellitus esetén megnövekedett értéket mutat (polimegethizmus). Mivel a corneális endothelsejtek emberben nem osztódnak, az elpusztult sejtek helyét a szomszédos sejtek foglalják el alakjuk megváltoztatásával, felszínük megnövelésével. Ezáltal az individuális sejtek mérete növekszik, amire a variációs koefficiens emelkedett értékéből következtethetünk. Az egészséges szaruhártya endothelsejtjeinek több mint 60%-a hatszögletű, ezen érték alatt a sejtek rendellenes alakváltoztatásáról, pleomorfizmusról van szó.

A spekulár mikroszkópia lehetővé teszi a szaruhártya precízebb morfológiai vizsgálatát. Preoperatív alkalmazva elősegíti a kedvezőbb műtéti kimenetelt a szem elülső szegmentjének műtétei, mind a szürkehályogműtét és refraktív beavatkozások, mind a szaruhártya-átültetés kapcsán.

## CÉLKITŰZÉS

Munkám célja a modern képalkotó mikroszkóp alkalmazásának megtanulása, biztonságos használatának kialakítása és klinikai gyakorlatban való alkalmazhatóságának vizsgálata egészséges szemeken és különböző szemészeti patológiás elváltozásokban. Az adatok statisztikai analízise után az eredmények összevetése a szakirodalomban hozzáférhető kutatási eredményekkel, rendelkezésre álló adatokkal. A vizsgálatokból levont következtetések alapján pedig útmutatás kialakítása további felhasználási módokra.

1. A szaruhártya átültetésre használt donor corneák vizsgálatára kifejleszteni egy megbízható, precíz és gyors módszert. Kvantitatív eredményt nyerni a donor corneák implantációjára való alkalmasságának eldöntésére.

2. Követni a szaruhártya átültetésen átesett páciensek corneájának morfológiai és kvantitatív változásait. Megvizsgálni, hogy van-e összefüggés a donor életkora, a donor cornea endothelialis sejtsűrűsége és a beültetés utáni hosszú távú sejtpusztulás között.

3. In vivo megvizsgálni diabetes mellitusban szenvedő betegek szaruhártyáját, összefüggést keresni az endothelium morfológiája és az azt befolyásoló tényezők – pl. a betegek életkora, a vércukorszintjük és a betegség fennállási ideje – között.

4. Vizsgálni a modern kontaktlencsék szaruhártyára és endothelsejtekre gyakorolt hatását. Klinikai tapasztalatot szerezni a különböző alapanyagú kontaktlencsék hordhatóságáról.

## BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

### A spekulár mikroszkóp működésének ismertetése

A spekulár mikroszkóp működési elve a fénytán egyik alapvető tételén, a fénytörés és visszaverődés elvén alapszik. A fény a különböző törésmutatójú határfelületeken visszaverődhet, elnyelődhet, illetve behatolhat az új közegbe. A levegő refraktív indexe 1.000, a könnyé 1.337, a corneáé 1.376, a csarnokvízé pedig 1.336. Ezen ismert törésmutatók segítségével kiszámolták, hogy a szembe jutó fény 0,022%-a az endothelium-csarnokvíz határfelületről visszaverődik. Az endotheliális sejtrétegről kellően erős és széles fénynyaláb visszaverődő képet felfogva az endothelsejtek megfelelő nagyításban megjeleníthetők további vizsgálódás céljára. Ez az alapja a szaruhártya endothel rétegéről készült képalkotásának.

Ez az endothel mikroszkóp kontakt mérési technikát tesz lehetővé, mérőfeje a szaruhártya felszínéhez hozzáér, azt kissé benyomja, így a módszer elvégzése helyi érzéstelenítést tesz szükségessé. A szabályos fényvisszaverődés során nyert kép (spekulár area) nagysága és alakja függ a visszaverő felület görbületétől. Síma felület esetén a leképzett terület és a kapott kép egyenlő nagyságú, míg gömbfelület esetén minden tengelyében kicsinyített kép keletkezik. A kontakt endothel mikroszkópok tehát a szaruhártya görbületét benyomva, a cornea görbületét kiegyenesítve, mint síma felszínről alkotnak egyenlő nagyságú egységnyi képet.

Az elemzés során kapott sejtsűrűséget korrekciónak kell alávetni. Erre azért van szükség, mert a fényvisszaverődésen alapuló spekulár mikroszkópia során a nagyítást is figyelembe véve a kapott eredmény a fény által megtett út hosszától is függ, ezért vastagabb corneák esetén a sejtsűrűség kisebb a valóságosnál, vékonyabb corneák esetén pedig nagyobb. Az eredményeket az alábbi – a gyártó által megadott – egyenlet segítségével korrigáltuk:

$$Z \text{ (korr.)} = Z \cdot (F / 10.566)^2$$

ahol  $Z \text{ (korr.)}$  a korrigált sejtsűrűség,  $Z$  az adott vizsgálatnál kapott aktuális sejtsűrűség,  $F$  a fókusz távolság, a 10.566 pedig egy a gyártó által megadott állandó kalibrációs érték.

A kontakt spekulár mikroszkópia során szükség volt a szaruhártya helyi érzéstelenítésére, amelyet tetracain hydrochlorid szemcseppel (FoNo VII. 1%) vagy 0.4% oxybuprocain hydrochloriddal végeztünk. A készülék mérőfejét minden vizsgálat után gondosan fertőtlenítettük.

## **Betegek és módszerek**

Az értekezés alapjául szolgáló vizsgálsorozatot a Helsinki Deklarációnak és a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottság által elfogadott szabályrendszernek megfelelően végeztük. Minden vizsgálatba bevont személyt részletesen tájékoztattunk a vizsgálatok lefolyásáról, várható kimeneteléről, lehetséges szövődményeiről. A páciensek a tájékoztatásról és a vizsgálatra való beleegyezésről írásbeli nyilatkozatot töltöttek ki.

### **1. Donor corneák spekulár mikroszkópos vizsgálata**

A kísérletek elvégzéséhez 62 kadáver donor 100 szemét használtuk. Az enukleációkat és az enukleált bulbusok vizsgálatát a halál időpontja utáni 12 órán belül végeztük. A corneális endothelium megítélése antibiotikus cseppentés után (Neomycin, FoNo VII.) kontaktmódszerrel, Tomey EM 1100 típusú kontakt spekulár mikroszkóppal (Tomey, Erlangen, Németország) történt. A szemgolyókat hypotonia esetén gázzal (levegő) vagy folyadékkal (NaCl) töltöttük fel a pars planán vagy a nervus opticuson keresztül. Ezután a bulbusokat általunk készített bulbustartóra helyeztük – amely megakadályozza a szemgolyó mozgását – és ezután helyeztük a bulbustartót és a bulbust együttesen a műszer álltartó részébe.

A donor szaruhártyák centrális részét vizsgáltuk, és több – legalább három – digitalizált képfelvételt készítettünk, majd a legjobb minőségű képet választottuk ki elemzésre. A digitális képeket az endothelsejtek vizsgálatára alkalmas számítógépes képanalizáló programmal (EM 1100, V 1.5.1, Tomey) elemeztük különféle vizsgáló módszerekkel és ezeket hasonlítottuk össze.

A vizsgálat során rögzítettük a donorok életkorát, meghatároztuk a corneák vastagságát (amit a fókusztávolság az epithelium és az endothelium sejtréteg közötti távolságból definiál), és a mm<sup>2</sup>-re számított sejtsűrűséget.

A vizsgálandó téglalap alakú területet (Region of Interest, ROI) állandónak ( $0,040 \pm 0,001$  mm<sup>2</sup>) állítottuk be, amely esetenként akár 100 sejtet is tartalmazott. Ezek után az alábbi – a program által választható – sejtanalizáló módszereket használtuk a sejtsűrűség megállapításához:

1. Normális vagy alapprogram: a vizsgálandó területen az EM-1200 program futtatása utólagos korrekció nélkül. Ennek során a program színskálával jeleníti meg az endothel sejteket méretük alapján.

2. Manuális korrekció: ugyancsak az adott területen belül a program által fel nem ismert sejthatárokat a vizsgáló rajzolja be. Ezek után a sejtszámolás hasonló módon történik, mint az előző pontban leírt normális esetben.

3. Kontraszt effektus: az adott területen a sejthatárokat kiemeli, és ezután végzi el a sejtszámolást.

## **2. Cornea vastagság és sejtsűrűség mérés szaruhártya-átültetés után**

A vizsgálatba 68 korábban szaruhártya-átültetésen (PKP) átesett páciens-t vontunk be. A műtétet indikáló diagnózis 36 esetben keratoconus, 14 szemén bullózus keratopathia, 9 szemén leucoma corneae, 7 esetben herpeszes eredetű keratitis, egy szemén Acanthamoeba keratitis és 1 esetben cornea disztrófia volt.

A beültetett donorok 29 esetben Optisol-ban (Chiron Ophthalmics, Irvine, California, USA) konzervált corneák voltak, míg 39 esetben friss (nedves kamrában tárolt) beültetés volt. A beültetett donor corneák átmérője 6.5 és 7.5 mm között váltakozott, a recipiens átlagosan 0,5 mm-el kisebb volt. A műtéteket több különböző operatőr végezte. A donorokat 10-0 nylon egyszeres tova futó varrattal rögzítettük.

A követési idő átlagosan a műtétet követően 67.8 hónap (12 hó – 276 hónap) volt. Korábbi kontaktlencse-viselés kizáró tényező volt a betegválasztásnál. A vizsgálatok során felszíni érzéstelenítő (tetracaine hydrochloride) cseppentése után 3 centrális képet készítettünk spekulár mikroszkóppal (EM 1100, Tomey, Erlangen, Németország). Corneavastagság mérés, endothel sejtsűrűség (ECD) és variációs koefficiens számolása történt a 1.5.1. képanalizáló szoftverrel. A cornea vastagságának megfelelően korrigáltuk a kapott értékeket (lásd spekulár mikroszkóp fejezet). Kerestük az összefüggést a sejtsűrűség csökkenése, a műtéti diagnózis és a donor cornea konzerválásának típusa között.

## **3. A corneális endothelium vizsgálata diabetes mellitusban**

Általános szemészeti ambulanciánkat felkereső diabetes mellitusban szenvedő betegek közül véletlenszerűen válogattunk be pácienseket vizsgálatunkba. Kizáró okok voltak:

kontaktlencseviselés, glaukóma, elülső szegmentumot érintő betegség, és korábbi intraokuláris beavatkozás. A betegeket I-es és II-es csoportba soroltuk. Az I csoportba soroltunk minden inzulin terápián lévő cukorbeteg függetlenül attól, hogy korábban más antidiabetikus kezelésben részesült-e. A II-es csoportba a nem inzulin terápiában részesülő betegek kerültek.

Minden beteg esetében rögzítettük az életkorát, a betegség kezdetét és az aktuális (3 napon belüli) vércukorszintjét. Réslápmás vizsgálatot, applanációs tonometriát, szemfenékvizsgálatot végeztünk minden páciens esetében. A számítógépes feldolgozást megkönnyítendő, 1-el jelöltük az eltérés nélküli fundust, 2-el a korai non-proliferatív, 3-al az előrehaladott non-proliferatív és 4-el a proliferatív diabéteszes retinopathiát.

Helyi érzéstelenítés után kontakt spekulár mikroszkóppal digitalizált fényképfelvételeket készítettünk a centrális corneális endotheliumról, minden szem esetében minimum hármat. A legjobb minőségű képet használtuk további elemzésre. A képeken a sejthatárokat manuálisan korrigáltuk. Meghatároztuk a  $\text{mm}^2$ -re eső átlagos endotheliális sejtsűrűséget, az átlagos sejterületet és a variációs koefficiens (átlagos sejterület standard deviációja/átlagos sejterület).

Rögzítettük a pachymetriai adatokat is. Mindkét diabéteszes csoport adatait a korazonos egészséges szemekkel hasonlítottuk össze.

#### **4. Kontaktlencse indukálta corneális változások**

Prospektív, non-randomizált vizsgálatunkban egy második generációs szilikon-hidrogél nappali viseletű kontaktlencse (Air Optix, 33% víztartalom, 8.6 mm bázisgörbület, 14.2 mm átmérő, CIBA Vision Corporation, Duluth, GA, USA) corneára gyakorolt hatását kívántuk tanulmányozni.

A vizsgálatban 55 személy 110 szeme szerepelt. Az első csoportba (1. csoport) soroltuk a korábban már hidrogél kontaktlencsét viselő 28 páciens, akiket a vizsgálatban átillesztettünk az új típusú kontaktlencsére. A második csoportba (2. csoport) 27 új kontaktlencse viselő került, akik korábban nem viseltek kontaktlencsét. A vizsgálatok az illesztés előtt, a második héten, 1 hónappal, majd három, hat hónappal, illetve 1, 2 és 3 évvel később történtek. Minden alkalommal ellenőriztük a látásélességet, réslápmás vizsgálatl a kontaktlencse centráltságát, mobilitását, a szaruhártya esetleges ereződését, valamint a corneális festődést néztük és Efron skálán értékeltük.

Egyszerű feleletválasztós (igen-nem) kérdőívvel vizsgáltuk a páciensek szubjektív véleményét. A kérdések kitértek a napközbeni és nap végi kényelemre, égő, szűrő érzés jelenlétére, szemszárazságra, szempirosodásra, homályos vagy ingadozó látásélességre. A kérdőívet a páciensek 4 hét lencseviselés után töltötték ki. A mikroszkópos vizsgálat a fentebb részletezett Tomey EM 1100 (Tomey, Erlangen, Németország) kontakt spekulár mikroszkóppal történt.

A vizsgálat előtt 0.4% oxybuprocain hydrochloriddal érzéstelenítettük a corneákat, 3-6 fényképet készítettünk, amelyeket a fent részletezett sejtelemező programmal elemeztünk. Mértük a cornea vastagságát, az endothel sejtek méretét, sűrűségét, variációs koefficiensét.

### **Statisztikai elemzés**

A statisztikai analízist SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) és MedCalc 10.2.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) programokkal végeztük. A leíró statisztika során az átlagérték  $\pm$  standard deviáció értékét adtuk meg. A hasonló paramétereket Wilcoxon próbával hasonlítottuk össze. Ismételt mérések varianciaanalízisét ANOVA (Analysis of variance) módszerrel elemeztük. Szignifikáns különbségnek a  $p < 0.05$  értéket tekintettük, az összefüggést a Spearman-féle korrelációs koefficienssel („r”) adtuk meg. A hasonló paramétereket Student-féle kétmintás t-próbával (p) hasonlítottuk össze. A Pearson-féle korrelációs koefficiens (r) meghatározásával pedig lineáris összefüggést kerestünk.

## **EREDMÉNYEK**

### **1. Donor corneák spekulár mikroszkópos vizsgálata**

A vizsgált donorok átlagéletkora  $65 \pm 11$  év volt. A legfiatalabb donor 43 éves, a legidősebb 87 éves volt. A corneák vastagsága átlagosan  $0.64 \pm 0.07$  mm-nek adódott.

Az átlagos centrális endotheliális sejtsűrűség legalacsonyabbnak -  $1823 \pm 253$  sejt/mm<sup>2</sup> - a normális (módosítás nélküli vagy alap) vizsgáló stratégiával bizonyult. A spekulár mikroszkóp fejezetben részletezett módon korrigáltuk a szaruhártya vastagságával a kapott adatokat. Így a szaruhártya vastagságához korrigált sejtsűrűség  $1853 \pm 257$  sejt/mm<sup>2</sup> volt ( $p < 0,0001$ ). Manuális számlálás során  $2103 \pm 194$  sejt/mm<sup>2</sup>-nek adódott az átlagos sejtsűrűség, amely korrigálás után  $2138 \pm 207$  sejt/mm<sup>2</sup>-nek felelt meg ( $p < 0,0001$ ). A kontraszt effektus használatával az átlagos sejtszám  $2126 \pm 180$  sejt/mm<sup>2</sup> volt, amely a korrekciós faktort figyelembe véve  $2160 \pm 185$  sejt/mm<sup>2</sup> volt ( $p < 0,0001$ ).

Ezek után már csak a cornea vastagságát figyelembe vevő korrigált adatokkal számoltunk tovább. A normális program során kapott eredmény szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a másik két módszer (manuális, kontraszt) alkalmazása kapcsán kapott érték ( $p < 0,0001$ ). A kézi korrekció és a kontraszt effektus között nem adódott szignifikáns különbség ( $p = 0,25$ ). Az életkor és a sejtsűrűség között nem volt kimutatható szignifikáns korreláció.

### **2. Cornea vastagság és sejtsűrűség mérés szaruhártya átültetés után**

A páciensek átlagéletkora  $42.4 \pm 17.1$  év volt, a donorok átlagéletkora  $66.2 \pm 14.3$  év volt. A műtét utáni követési idő  $67.8 \pm 74.1$  hónap (12 – 276 hó) volt. Réslámpás vizsgálattal a követési idő alatt az összes transzplantátum transzparens volt. A corneák centrális részén 3 vizsgálat történt, melyek átlagával számoltunk tovább.

Az átlagos sejtsűrűség  $1501 \pm 249$  sejt/mm<sup>2</sup> ( $1100 - 2225$  sejt/mm<sup>2</sup>) volt. A sejtsűrűség a keratoconusos csoportban  $1483 \pm 244$  sejt/mm<sup>2</sup>, keratopathia bullóza esetén  $1528 \pm 279$  sejt/mm<sup>2</sup>, herpeszes keratitiszesek esetén  $1573 \pm 263$  sejt/mm<sup>2</sup>, a corneális leukoma csoportban  $1509 \pm 334$  sejt/mm<sup>2</sup> volt. Nem találtunk szignifikáns különbséget a műtétet indokoló diagnózis csoportok között ( $p = 0,58$ ;  $p = 0,42$ ;  $p = 0,82$ ). A PKP műtét után átlagosan 5 évvel vizsgálva a sejtsűrűséget az Optisolban tárolt donor corneák átlagos sejtsűrűsége

–  $1545 \pm 237$  sejt/mm<sup>2</sup> – és a frissen beültetett donorok átlagos sejtsűrűsége között –  $1467 \pm 256$  sejt/mm<sup>2</sup> – nem volt szignifikáns különbség detektálható ( $p=0.2$ ).

Az átlagos sejtméret a követési idő végén  $665.4 \pm 118.8$   $\mu\text{m}^2$  ( $447.5 - 915.5$   $\mu\text{m}^2$ ), a variációs koefficiens  $0.61 \pm 0.11$  ( $0.37 - 0.85$ ) volt. A cornea vastagság  $0.56 \pm 0.06$  mm ( $0.45 - 0.73$  mm) volt. Statisztikailag szignifikáns pozitív korrelációt figyeltünk meg a műtét óta eltelt idő és a cornea vastagság között ( $r=0.36$ ,  $p=0.002$ ). Nem igazoltunk szignifikáns összefüggést a műtét óta eltelt idő ( $r=0.02$ ,  $p=0.85$ ), a páciens életkora ( $r=0.11$ ,  $p=0.35$ ), a donor életkora ( $r=0.04$ ;  $p=0.83$ ) és az átlagos sejtsűrűség között. Ugyancsak nem volt korreláció a cornea vastagsága és a sejtsűrűség között. Az évenkénti endothelsejt-veszteség az első 2 évben 15,8% volt.

### **3. A corneális endothelium diabetes mellitusban**

A tanulmányba 21 I-es típusú diabetes mellitusban (1-es csoport) szenvedő beteg (9 nő, 12 férfi, átlagéletkor  $40,97 \pm 15,46$  év) 41 szemét és 30 II-es típusú diabetes mellitusos (2-es csoport) szenvedő beteg (20 nő, 10 férfi, átlagéletkor  $64,36 \pm 10,47$  év) 59 szemét vontuk be. A betegség fennállásának ideje az első csoportban átlagosan  $10,88 \pm 8,06$  év, a második csoportban  $13,61 \pm 6,5$  év volt. Az 1-es csoporttal korazonos kontroll csoportban 22 személy (9 nő, 13 férfi, átlagéletkor  $40,45 \pm 15,16$  év) 40 szeme, a 2-es csoporttal korazonos 30 egyén (15 férfi és nő, átlagéletkor  $62,69 \pm 13,38$  év) 60 szeme szerepelt.

A diabetes mellitus I-es típusában az endotheliális sejtsűrűség csökkent ( $p=0.024$ ), ezzel párhuzamosan a sejterület növekedett ( $p=0.001$ ), csakúgy, mint a sejterület variációs koefficiense ( $p=0.002$ ) az életkorazonos kontrollokhoz viszonyítva. A corneák vastagabbak voltak, a szemnyomást azonban azonosnak mértük az egészséges szemekkel ( $p=0.25$ ). Az átlagos HbA1c érték ( $8,55 \pm 1,83\%$ ) fordított arányosságot mutatott az endotheliális sejtsűrűséggel ( $r=-0,60$ ;  $p<0,0001$ ), és ennek megfelelően egyenesen arányos volt az átlagos sejterülettel ( $r=0,60$ ,  $p<0,0001$ ). A előbb említett endotheliális paraméterekkel a fenti sorrendben a szérumbércukorérték is hasonló – igaz gyengébb – korrelációt eredményezett ( $r=-0,35$ ,  $p=0,023$ ;  $r=0,36$ ,  $p=0,022$ ). Negatív korrelációt találtunk a sejtszám és a betegség fennállása ( $r=-0,38$ ,  $p=0,014$ ), valamint a retinopathia diabetica stádiuma között is ( $r=-0,40$ ,  $p=0,01$ ).

II-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegeken a corneális és endotheliális paraméterek nem különböztek az egészségesek corneáin mért értékektől. Bár a HbA1c érték

ebben a csoportban is magasabb volt ( $8.79 \pm 2.01\%$ ), sem ez az érték, sem a glükózsint nem korrelált a vizsgált szaruhártya adatokkal. A betegség fennállásának időtartama és a retinopathia diabetica sem mutatott olyan jellegű összefüggéseket a cornea fiziológiájával és az endothelium morfológiájával, mint a betegség I-es típusában.

Inzulin dependens diabetes mellitusban a sejtszám inverz ( $r=-0.38$ ,  $p=0.013$ ), a sejterület egyenes arányos korrelációt mutatott a betegek életkorával ( $r=0.41$ ,  $p=0.008$ ). Non-inzulin dependens diabéteszben ilyen összefüggéseket nem tudtunk igazolni. Ebben a csoportban a betegek szaruhártya-vastagsága az életkorral fordítottan volt arányos ( $r=-0.44$ ,  $p<0.0001$ ).

#### **4. Kontaktlencse indukálta corneális változások**

Az első csoportban 1 férfi és 27 nő szerepelt, átlagéletkoruk a vizsgálat kezdetén  $25 \pm 7.1$  év volt. Átlagosan  $5.93 \pm 6.02$  éve viseltek kontaktlencsét. A 2. csoportban 3 férfi és 24 nő szerepelt, átlagéletkoruk  $20 \pm 2.15$  év volt.

A távoli látásélesség minden esetben 1.0 (20/20) volt, a kontaktlencsék centráltnak, jól illeszkedőnek (1-2 mm-es lencsemozgás) bizonyultak a réslámpás vizsgálat alkalmával. Az elülső szegmentum állapota ép volt, a corneális festődés az Efron szerinti 1-es stádiumot nem haladta meg. A réslámpás vizsgálat során hipoxiás (mikrociszta, Descemet-redő, cornea festődés) következményeket nem találtunk. Sőt, egyik páciensünknel a limbális érhálózat jelentős javulását detektáltuk.

Az 1. csoportban a páciensek 60%-a (16/28) kényelmetlennek érezte a hidrogél lencsét. Áttillesztve az új lencsére már csak 1 páciensnek (6%) volt diszkomfort érzése. Az első csoportban 53% (14/28) számolt be szúródásról, irritációról. Ezen panaszok az áttillesztés után teljesen megszűntek. Szemszáradás 60%-ban (16/28) fordult elő, de ezek a panaszok is elmúltak az új lencsével. A páciensek 53%-a (14/28) nyilatkozott úgy, hogy tovább tudja hordani az új lencsét a régebbinél. Homályos látás az első csoport betegeinél 60%-ban (16/28) jelentkezett, de senki sem számolt be erről az új lencse viselésékor.

A 2. csoportban az első két hétben a páciensek 44%-a (12/27) számolt be enyhe kényelmetlenségről, irritációról, mely a 4. hétre elmúlt (megszokási időszak).

Ismételt mérések varianciaanalízisét ANOVA (Analysis of variance) módszerrel elemeztük, mely nem igazolt statisztikai szignifikanciát a mérések között. A cornea vastagsága és az endothel sejtsűrűség nem különbözött szignifikánsan a csoportokban. A kettes csoportban

az endothel sűrűség az első hónapban csökkent, de ezt már a 6. hónapban nem észleltük. A első csoportban a sejtsűrűség évenkénti csökkenése 1.62% volt, a második évben 0.85%, a harmadik évben 6.43% volt ( $p=0.25$ ; 0.26; 0.59). A 2. csoportban ezen értékek 0.78%, 0.46% és 3.7% voltak ( $p= 0.28$ ; 0.06; 0.93).

A kontaktlencse-viselés ideje és a variációs koefficiens között korreláció figyelhető meg az első csoportban (0.47, 0.44;  $p=0.049$ ). Ugyanez a korreláció nincs meg a 2. csoportban.

## MEGBESZÉLÉS

A szaruhártya anatómiai és funkcionális állapotának jellemzéséhez nélkülözhetetlen faktor a cornea vastagsága és az endotheliális sejtmorfológia vizsgálata. A spekulár mikroszkópiát 1968-ban David M. Maurice fejlesztette ki, 1975-ben és 1976-ban Ronald A. Laing, valamint William M. Bourne és Herbert E. Kaufman vezette be a klinikai gyakorlatba. Az endotheliális sejtsűrűség a szaruhártya egészségi állapotának fontos markere. A normális öregedés, különféle betegségek és traumák mind-mind endothelsejt-pusztulással járnak. Ezért az endothel-mikroszkópia széles indikációs köre kiterjed a bullózus keratopathia, a hereditér szaruhártya dystrophiák, a cornea ectasiák, a kontaktlencse-viselet, a diabéteszes keratopathia, a glaucoma és az uveitis eseteire, a trauma utáni, a szürkehályog-műtétet követő állapotokra, valamint a perforáló és lamelláris keratoplasztika után a transzplantátum vizsgálatára, illetve graft-rejekció megállapítására, és nem utolsósorban a donor corneák vizsgálatára.

### **1. Donor corneák spekulár mikroszkópos vizsgálata**

Az endotheliális sejtszám meghatározása elengedhetetlen a donor szaruhártyákban konzerválás, felhasználás előtt. Az Európai Szembank Szövetség (European Eye Bank Association, EEBA) minimálisan 2000 sejt/mm<sup>2</sup>-es sejtszámot írt elő a beültetéshez történő konzerválás előtt.

Tanulmányunkban olyan bulbusokat használtunk fel, amelyek post mortem 12 órán belül vizsgálatra kerültek. Így is az esetek többségében hypotonia és a kezdődő autolysis miatt fellépő ödéma nehezítette a vizsgálatokat. Ezek után minden esetben sikerült a sejtanalízishez kielégítő minőségű képet nyerni az endotheliumról. Ezért cornea konzerválása előtt javasoljuk a hypotoniás szemgolyók feltöltését.

A corneák vastagsága átlagosan 0.64 mm-nek bizonyult jelen tanulmányunkban. Ez hasonló volt más szerzők kontakt elven működő spekulár mikroszkóppal mért eredményeihez. Egy másik tanulmányban ezzel szemben ugyancsak enucleált, konzerválásra szánt bulbusok szaruhártya vastagságát Orbscan topográfival 0.766 mm-nek találták. Erről a készülékről azonban tudjuk, hogy vastagabbnak méri a corneát, mint a széles körben elfogadott ultrahangos technika.

Spekulár mikroszkópia során a sejtszámlálás elvégzéséhez egyáltalán nem mindegy, hogyan választjuk ki a vizsgálandó területet (Region of Interest, ROI). Az irodalomban 100 sejt megszámlálását tartják a legoptimálisabbnak, de a vizsgált területnek minimálisan 75 sejtet kell tartalmaznia. Kevés sejtet vizsgálva az eredmény éppúgy téves lehet, mint amikor sok sejt kerül kijelölésre és ilyenkor a sejtelemező program nem megfelelően ismeri fel a határokat. Ezért további fontos szempont a morfológia megítélésében és a sejtszámlálásban a szoftver által felkínált megfelelő képjavító opciók használata. Saját vizsgálatainkban a kontraszt effektus és a kézi számlálás módszerét hasonlítottuk össze a gép által alapként választható teljesen automatikus (normális) sejtszámlálással. Minden esetben azonos nagyságú (ROI) mezőt használtunk. Megállapítottuk, hogy a szoftver által alapopcióként felkínált normális automata sejtszámlálás a sejthatárokat nem megfelelően ismeri fel, ami a kapott digitális fénykép és a sejthatárokra vetített hálóból egyértelműen kiderült. Ha azonban kontraszt effektussal vagy kézi számlálással jelöltük ki és számoltuk meg az endothel sejteket, akkor nemcsak azt láttuk az elkészült képeken, hogy a sejthatárok felismerése korrekt, hanem azt is megállapíthattuk, hogy a két utóbbi módszer között szignifikáns különbség nem volt.

Az elmúlt 20 év irodalmában az endothel mikroszkóp segítségével számolt endotheliális sejtsűrűség (60 év feletti pácienseknél vizsgálva) nagy variabilitást mutat.

Az általunk kapott sejtsűrűség az irodalmi adatok egy részéhez hasonló. Külön kiemelendő Seitz és munkatársai eredménye, akik hasonló készülékkel és módszerrel vizsgálták a corneákat, és eredményeik összevethetőek az általunk kapott eredményekkel. A más szerzők által nyert eredményekhez viszonyított eltérés hátterében az in vivo és in vitro vizsgálat közötti különbség, valamint a post mortem autolízis állhat.

Vizsgálataink elemzése során nem találtunk korrelációt az életkor és az endotheliális sejtsűrűség között. Ez a tény valószínűleg abból ered, hogy a donorok egységesen idősebb populációból kerültek ki. Ismert, hogy az endotheliális sejtsűrűség csökkenése az első életévben a legnagyobb (a cornea növekedése miatt), majd a második életévtizedig a csökkenés mértéke lassul. A huszadik és a nyolcvanadik életév között a csökkenés mértéke átlagosan mintegy évi 0.52%.

## 2. Cornea vastagság és sejtsűrűség mérés szaruhártya átültetés után

A perforáló keratoplasztika a világon leggyakrabban végzett allotranszplantáció. A beavatkozás leginkább a pszeudofákiás bullózus keratopathia, Fuch's disztrófia, keratoconus, és corneális heg miatt történik.

A donor corneák "túlélése", vagyis átlátszóságának megmaradása az első évben 90 %, az ötödik évben 88 %, a tizedik évben 60-80 %. Ha alacsony kockázatú a szaruhártya átültetés (pl. keratoconus, corneális heg), akkor a beültetett szaruhártyák akár 97%-a még 4 év után is tiszta marad. Az endothelium még 30 év elteltével is meg tudja tartani eredeti funkcióját, ha a beültetett cornea sejtsűrűsége legalább 2500 sejt/mm<sup>2</sup>.

A szaruhártya átültetésre használt donor corneák minimális endothel-sűrűségének az irodalmi adatok szerint 2000-2500 sejt/mm<sup>2</sup> kell lennie. A szaruhártya átlátszóságához 250-500 sejt/mm<sup>2</sup> alsó határt ír a szakirodalom. Ha a donor cornea sejtsűrűsége 2000 sejt/mm<sup>2</sup> alatt van, könnyen elérheti a kritikus értéket a beültetés után 20 évvel. Az irodalmi adatok szerint ugyanis a normális szaruhártyák endothelialis sejtjeinek felezési ideje 224 év, ami lecsökken 21-26 évre, ha szemmegnyitó műtét történik.

Vizsgálatunkban a szaruhártyákon a követési idő végén a legalacsonyabb sejtsűrűség 1100 sejt/mm<sup>2</sup> volt. A korfüggő és a műtét utáni változások, mint a pleomorphizmus, polimegethizmus, sejtsűrűség-csökkenés, corneavastagodás részletesen olvasható az irodalomban. Bourne beszámolt arról, hogy a megnagyobbodott endothelsejtek nem tudják tisztán tartani az átültetett szaruhártyát. Møller-Pedersen a sejtvesztéséget nagyobbak találta a fiatalabb életkorú csoportban. Adatai szerint a 14 év alattiakban a sejtvesztés 2.9%, míg 14 év felett 0.3%, amely értékek alacsonyabb az általunk kapott adatoknál.

Az irodalmi adatok szerint az endothelsejt-vesztés évente 0.3-0.6 % normális szemeken. Szemmegnyitó műtétek után a sejtvesztés felgyorsul. Szürkehályog-műtétet követően az első tíz évben az évenkénti ECD vesztés 2.5% -ra emelkedik. Az endothelsejtpusztulás gyorsabb szaruhártya-átültetés után, mint cataracta műtétet követően. Ennek oka lehet a donor corneák tárolása és felhasználása során elszenvedett károsodás, de olyan tanulmány is van, amely nem mutat endothelsejtszám-csökkenést PKP után. Kevés olyan közlemény van, amely a hosszú távú eredményeket mutatja be. Szaruhártya átültetés után az endothelsejt-vesztés biexponenciálisan modellezhető, melynek két fázisa van: egy gyors az első posztoperatív évben és egy lassabb a későbbiekben. Hasonlóan eredményünkhöz műtét után két

évvel 33%-os csökkenésről olvashatunk az irodalomban, mely összevethető a mi egyéves 15,8 %-os eredményünkkel. Az első 1-2 év után az ECD-csökkenés a beavatkozás nélküli szemekhez képest 3-7-szer gyorsabb, 10 év után a kiindulási érték 50-65%-kal csökken. Ha csak a hosszú távú eredményeket elemezzük, akkor egy másik monoexponenciális modellel is jellemezhető a sejtszám csökkenés.

Egyes szerzők nagyobb veszteségről számolnak be keratoconus esetén, míg mások Fuchs-disztrófia vagy corneális ödéma fennállásakor találtak nagyobb sejtvésztestet. A sejtszám csökken az életkorral, ezért a donorok életkora fontos lehet a graft túlélésben. Ellentétben a fentiekkel, eredményeinkben nem volt összefüggés a donorok életkora és a kapott eredmények között, de fontos megjegyezni, hogy mi csak 2000 sejt/mm<sup>2</sup> feletti szaruhártyákat ültettünk be.

A sejtterület variációs koefficiense alacsonyabb (0.29) Ing és munkatársai 5 éves követésében, mint a mi beteganyagunkban (0,37-0.85). A szaruhártya vastagsága (0.54-0.57 mm) ebben a cikkben hasonló volt saját eredményeinkhez (0.56 mm).

### **3. A corneális endothelium diabetes mellitusban**

A diabetes mellitusnak számos szemészeti, ezen belül corneális komplikációja ismert. A szaruhártyát érintő elváltozások közül ismert a cornea csökkent érzékenysége, neurotrófikus fekélyek, perzisztáló epitheliális defektusok, valamint epitheliális és stromális ödéma kialakulása. Többek között ezen tényezők miatt gyakori a műtét utáni elhúzódó sebgyógyulás és tartós szaruhártya-duzzanat fennállása diabetes mellitusos betegekben. Ezekért a folyamatokért egyrészt az epithelium, de nagyobb részben az endothelium felelős. Az irodalmi adatok azonban ellentmondóak az endothelium morfológiai, strukturális és ezzel összefüggésben a funkcionális szerepét illetően. Korábbi közlések megállapították, hogy diabetes mellitusban a corneális endothelium kóros szerkezetű. Többen leírtak azonban kontroll csoporttal összehasonlítva normális sejtsűrűséget átlagosnál vastagabb corneával; polimorfizmussal; a variációs koefficiens és a szemnyomás növekedésével, de normális vastagsággal és sejtterülettel; polimorfizmussal, polimegethizmussal. Egy tanulmány pedig az egészséges szemekhez viszonyítva a diabetes mellitus mindkét típusában szignifikáns különbséget észlelt a sejtsűrűség, a szaruhártya vastagsága, a variációs koefficiens és a sejtterület tekintetében.

Jelen tanulmányban inzulinnal és nem inzulinnal kezelt diabetes mellitusos betegek corneális endotheliumát és más, a betegséget jellemző adatait vetettük össze egymással és

egészséges szemekkel. Legfontosabb megállapításunk az volt, hogy a corneális endothelium sejtsűrűsége (sejt/mm<sup>2</sup>) kisebb volt a betegek szaruhártyájában, mint az egészséges szemekében, és ez az eltérés I-es típusú diabetes mellitus esetében szignifikáns volt. Az átlagos sejterület (μm<sup>2</sup>) viszont szignifikánsan nagyobb volt a diabetes mellitusos betegek corneájában összevetve a kontrollokéval. A fenti morfológiai jellemzők mellett a variációs koefficiens (átlagos sejterület standard deviációja/átlagos sejterület) meghatározásával következtethetünk a cornea funkcionális állapotára is. A diabetes mellitusos betegek corneáiban ezt a paramétert nagyobbak találtuk, mint a kontrollokéban, és ez az eltérés a betegség I-es típusában szignifikánsnak bizonyult. A sejterület növekedése alapján tehát mind az I-es, mind a II-es típusú diabetes mellitusban polimegethizmust mutattunk ki.

A cornea endotheliumot jellemző morfológiai és funkcionális adataink tehát azokhoz a megfigyelésekhez kapcsolódnak, amelyek az endothelium pathológiás szerkezetét mutatták ki diabetes mellitusban. Egyes közlések szerint ezek a változások kifejezettebbek az inzulin dependens cukorbetegéknél. A kóros endotheliális szerkezet kialakulásának mechanizmusa diabetes mellitusban pontosan nem ismert. Több állatkísérletes és humán megfigyelés alapján valószínűleg ezekért a folyamatokért az aldóz reduktáz hibás működése felelős, amelyet az endotheliumban is kimutattak immunhisztokémia segítségével. A megváltozott enzimfunkció következtében intercellulárisan poliolt, intracellulárisan sorbitol halmozódik fel, ozmotikus és toxikus hatásokat okozva az endotheliumban. Valószínűleg hasonló folyamat játszódik le, mint cataracta diabetica képződése esetén. A hyperglükémia gátolja az endotheliális ATP-függő Na/K pumpát is, a sejtek fokozatosan megduzzadnak, majd létrejönnek az általunk is észlelt morfológiai változások. A betegeinknél a magas vércukorszint mellett mért normális corneavastagság, és szemnyomásértékek valószínűleg azt jelzik, hogy ez a pompa funkció még nem merült ki teljesen.

A variációs koefficiens II-es típusú diabetes mellitusban a szemfenék állapotával mutatott szignifikáns összefüggést ( $r=0.43$ ,  $p=0.03$ ), amit más szerzők is leírtak már. Az endothelium morfológiájának változása, rosszabbodása tehát párhuzamos a fundus állapotának romlásával. A sejtsűrűség az életkorral mutatott szignifikáns összefüggést II-es típusú cukorbetegségben ( $r=-0.39$ ,  $p=0.05$ ). Az ebbe a diabetes mellitusos csoportba tartozó betegek átlagos életkora mintegy 14 évvel volt több a kontrollokénál. Valószínű azonban, hogy ezeket a változásokat az előrehaladott életkor (átlagosan 66.2 év) okozta és maszkírozta, ahogyan azt mások is megfigyelték.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy diabetes mellitus mindkét típusában a corneális endothelium patológiás szerkezetű. A morfológiai paraméterek kóros átlagos sejtsűrűséget, variációs koefficiens és sejterületet jeleztek. Ezek a szerkezeti eltérések nem inzulin dependens diabetes mellitusban összefüggtek a szemfenéki kép állapotával. A tanulmány azokat a megfigyeléseket erősíti meg, amelyek a diabétesz betegek esetében az endothelium fokozott sérülékenységére hívják fel a figyelmet, belső és külső (elsősorban mechanikai, műtéti) traumák kapcsán.

#### **4. Kontaktlencse indukálta corneális változások**

A szaruhártya oxigénellátása a környezetéből történik. A kontaktlencse viselése barriert jelent a szaruhártya oxigénnel történő érintkezésében. Ezért a kontaktlencse hosszú távú viselése befolyásolhatja a szem elülső szegmentumát. Az oxigén diffúzióval jut át a kontaktlencsén. Ennek mérése az International Organization for Standardization (ISO) szerint az oxigén permeabilitás mérésével standardizált körülmények között történik, és Dk-val jelölik. A Dk mértékegysége  $10^{-11}$  (cm<sup>2</sup>/s) x [ml O<sub>2</sub> / (ml x hPa) vagy (cm/sec) x (ml O<sub>2</sub> / ml x mmHg)]. Egy kontaktlencse oxigén transzmisszibilitását Dk/t-vel jelölik, és a -3.0 dioptriás (ISO standard) kontaktlencse vastagságát (t) is figyelembe veszik. A Dk/t mértékegysége  $10^{-9}$  (cm/s) x [ml O<sub>2</sub> / (ml x hPa)] vagy (cm/sec) x (ml O<sub>2</sub> / ml x mmHg). Ez az érték minden kontaktlencsén fel van tüntetve.

A szilikon hidrogél (SiHi) lencsékben a szilikon gumi hagyományos hidrogél monomerrel van elegyítve. A szilikon komponens biztosítja a magas oxigénáteresztést, a hidrogél a nedvesedést és a flexibilitást. Az oxigén-permeabilitás azért jobb ezekben a lencsékben, mert a szilikon jobb oxigénvezető, mint a víz. A kényelemre viszont a magas rigiditás miatt rossz hatása van. Ezen változtatott az általunk is kipróbált lotrafilcon B, a szilikon hidrogél alapú kontaktlencsék második generációja, mely fokozza a komfortot és a hordhatóságot. Az első generációs lencsék közé tartozik a lotrafilcon A és balafilcon A. Ezeket kevesebb víztartalom és magas modulus jellemzi. A második generációs lencsék közé tartozik a lotrafilcon B, a senofilcon A, és a galyfilcon A. Ezek a második generációs lencsék kényelmesebbek, de az oxigén áteresztésük kicsit alacsonyabb. Magasabb a víztartamuk és alacsonyabb a moduluszuk.

Vizsgálatunk bizonyította, hogy a hagyományos alacsony oxigénáteresztésű hidrogél lencsék károsíthatják a szaruhártya endotheliumát. Az 1. csoportban megfigyelt sejtszűkenés

mértéke átlépi ugyanis az irodalomban közölt normális évenkénti 0.56%-os értéket. A magasabb oxigénáteresztésű SiHi lencse sem képes teljesen megközelíteni a normális sejtpusztulást. A kapott eredmények azonban az mutatják, hogy a 2. csoportban a lotrafilcon B lencse viselése esetén több oxigén jut a szaruhártyának, csökkentve ezzel a hipoxia okozta károsodást.

Vizsgálatunkban a két csoport nem volt korazonos. Az első csoportban már több éve viseltek lencsét a páciensek, tehát a korazonosság a lencseviselés kezdetén volt. A sejtsűrűség és az életkor, valamint a variációs koefficiens és a lencseviselési idő közötti vizsgálatban hasonló eredményeket kaptunk az irodalmi adatokhoz, azaz az életkor nem függött össze a sejtsűrűséggel, de a lencseviselés ideje és a variációs koefficiens korrelált.

Jelen tanulmányunkban a cornea centrális területét vizsgáltuk. Ez azért fontos, mert Amann és társai munkájából tudjuk, hogy a szaruhártya centrális területén a sejtsűrűség nagyobb, mint a középperiférián és a periférián. Ezt kontaktlencse-viselőknél nem figyelték meg, ami felveti a kontaktlencse endotheliumra gyakorolt redisztribúció lehetőségét.

A lotrafilcon B lencséről kevés irodalmi adat található. Ezek azonban megegyeznek eredményeinkkel, miszerint a lotrafilcon B lencse nappali viseletben egészségesebb a szem számára pl. conjunctivális és limbális vérbőség, szaruhártya neovascularizáció, cornea ödéma, cornea- és conjunctiva-festődés tekintetében. A páciensek panaszai – mint a kényelmetlenség, szempirosodás, szárazság, irritáció, homályos látás – csökkennek. A 2. csoportban észlelt kezdeti panasz a lencse megszokási idejével van összefüggésben, ugyanis az adaptációs első két hét után ezek a panaszok megszűntek. Minden lencsének van adaptációs ideje, erre fel is hívjuk a páciensek figyelmét.

A szilikon hidrogél lencsék elegendő oxigént engednek a szaruhártyához, megvédve ezzel a hipoxia okozta károsodásuktól. Emellett Santos és munkatársai arról is beszámoltak, hogy a szilikon hidrogél lencsékhez kevésbé kötődnek a mikróbák, mint a hidrogél lencsékhez. Ez a tulajdonság ellenállóbbá teszi ezeket a lencsét a baktériumokkal szemben. Egy másik tanulmányban Lira és munkatársai arról számoltak be, hogy a szilikon hidrogél lencsék időtállóbbak, tovább tart a biokompatibilitásuk. Ezek magyarázhatják a sikerüket a klinikai gyakorlatban.

A Gothenburg study demonstrálta, hogy az alacsony Dk/t lencse hosszú távú viselete megváltoztatja a corneális epithelium metabolizmusát, az oxigénhiány miatt vékonyabb lesz az

epithelium. Jalbert és munkatársai nemrég arról írtak, hogy ez az oxigénhiány jelentősen csökkenthető szilikon hidrogél lencsék viseletével.

Dumbleton és munkatársai panaszmentes kontaktlencse-viselőket illesztettek át magasabb Dk/t értékű lencsére és azt találták, hogy a páciensek objektív és szubjektív válaszaik is javultak. Eredményeikben a bulbáris és a limbális hyperaemia szignifikáns csökkenéséről számolnak be, amit mi is megfigyeltünk pácienseinken, hasonlóan a nap végi kényelemfokozódásához. Doughty és munkatársai cikkében arról olvashatunk, hogy szilikon hidrogél lencse viselése kapcsán a bulbáris és limbális vörösség jelentősen csökken 6 hónap alatt. Tehát a magasabb oxigénáteresztő-képesség szerepet játszik a komfortban. Ha növeljük az oxigén-permeabilitást, javul a szaruhártya metabolizmusa, csökkentve a komplikációkat.

Az alacsony Dk/t-jű hidrogél kontaktlencsék elhúzódo viselése hipoxiát okoz a szaruhártyában. Majdnem minden lencseviselő panaszodik reggel, ha elfelejtette kivenni éjszakára a lencsét ("closed-eye contact lens wear"). Ilyenkor ugyanis a könnyáramlás megszűnik a lencse és a szem felszíne között, ami metabolikus változásokat okoz a szaruhártya epitheliumának mikrokörnyezetében. Néhány percen belül a szaruhártya stroma és az endothelialis sejtek anaerob glikolízisen mennek keresztül. Ennek következménye a szaruhártya duzzadása lesz. Ha rövid ideig tart ez az állapot, az nem vezet irreverzibilis károsodáshoz a szaruhártya szerkezetében. De ha elhúzódo, gyakori hipoxia áll fenn, akkor a károsodások az epitheliumban, a stromában és az endotheliumban már kevésbé visszafordíthatóak. Az oxigénhiány jelei lehet a mikrociszták megjelenése az epitheliumban, epithelium-elvékonyodás, lassult mitózis, hemidesmoszómák számának csökkenése, csökkent oxigénfogyasztás és megnövekedett felszíni epithelsejtek. A stromális változások során a glükózaminoglikánok pusztulása következtében stromavékonyodás lesz, az endotheliumon pedig polimegethizmus alakul ki. Ezen kívül megfigyelhető még conjunctivális hyperaemia, corneális neovascularizáció, cornea ödema, corneális festődés, myopizálódás és csökkent bakteriális rezisztencia következményes mikrobiális keratitis kialakulásával. Ezek az elváltozások olyan szubjektív tüneteket okoznak, mint a változó vagy homályos látás, fényforrások körüli karika látása. Hasonlóan Schafer és munkatársai eredményéhez a magasabb Dk/t értékű lencsére átillesztett páciensek kevésbé érzik száraznak szemüket, tovább érzik kényelmesnek a lencsét a nap folyamán.

## **ÚJ EREDMÉNYEK ÉS KLINIKAI JELENTŐSÉGÜK**

### **1. Donor corneák spekulár mikroszkópos vizsgálata**

A donor bulbusok corneájának in vitro vizsgálatára a spekulár mikroszkópia jól alkalmazható. A hypotoniás szemgolyókat a Descemet-redők csökkentése céljából célszerű gázzal vagy folyadékkal feltölteni. Az endotheliális morfológia vizsgálata során minimum 75 sejt elemzése szükséges, és a sejtelemzés során vagy kézi, vagy a szoftver által felajánlott kontraszt effektus alkalmazását javasoljuk. Az utóbbi módszer gyorsabb és nem függ a vizsgáló személyétől. Az endotheliális sejtszám korrekciója a corneavastagság függvényében a megfelelő egyenlet használatával szintén kötelező.

### **2. Cornea vastagság és sejtsűrűség mérés szaruhártya átültetés után**

Megállapíthatjuk, hogy az endothelsejt-veszteség szaruhártya-átültetés után nem elhanyagolható. Eredményeink megegyeznek az irodalmi adatokkal. Sem a műtétet indikáló diagnózis, sem a donor életkora, sem pedig a minimális sejtszám határ feletti kiindulási sejtsűrűség nem befolyásolja a hosszú távú sejtvesztés mértékét.

### **3. Corneális endothelium diabetes mellitusban**

Diabetes mellitusban csökkent corneális endotheliális sejtszámot, következményesen megnagyobbodott átlagos sejtterületet, és a szaruhártya állományának megvastagodását mutattuk ki az egészséges kontrollokkal szemben. A diabetes mellitusos betegek szaruhártyája tehát állandó stressz állapotban van, a külső és belső traumára (pl. sérülések, intraoculáris műtétek) sokkal érzékenyebben reagál. Megállapítottuk, hogy ez különösen a betegség I-es típusában jellemző, akiknél a HbA1c és a szérum glükóz szint is rosszul beállított. Felhívtuk a figyelmet arra, hogy a diabetes mellitus ismert szemészeti szövődményei mellett a diabéteszes keratopathia kialakulásával is számolni kell.

### **4. Kontaktlencse indukálta corneális változások**

A második generációs lotrafilcon B lencse biztonsággal és panaszmentesen viselhető. Mind a szubjektív, mind az objektív paraméterek jobbnak bizonyultak a hagyományos hidrogél lencséhez képest.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönet a családomnak, hogy időt szakíthattam munkámra.

Köszönettel tartozom Dr. Berta András professzor úrnak, a DEKK Szemklinika intézetvezető egyetemi tanárának és a Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola vezetőjének, hogy a kutatások elvégzéséhez szükséges feltételeket megteremtette és a PhD értekezésem elkészítését intézetében lehetővé tette.

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Kemény-Beke Ádámnak, hogy munkámat mindvégig figyelemmel kísérte és mind az elméleti, mind a gyakorlati kérdésekben sokoldalú tanácsokkal látott el, támogatott.

Köszönöm társszerzőimnek Dr. Módis László professzor úrnak hasznos tanácsait, Dr. Németh Gábornak a statisztikai számításokat és Dr. Szalai Eszternek az önzetlen segítségét.

Köszönöm a Szemklinika minden dolgozójának a betegek kiválasztása és vizsgálata során nyújtott lelkiismeretes segítségét.



Nyilvántartási szám: DEENK/201/2015.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kettesy Beáta  
Neptun kód: DJBUIV  
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kettesy, B.**, Várdai, J., Berta, A., Módis, L., Kemény-Beke, Á.: A survey of corneal changes caused by daily wear silicone hydrogel contact lenses.  
*J. Innov. Opt. Health. Sci.* "Accepted by Publisher" (2015)  
IF:1.110 (2014)
2. **Kettesy, B.**, Németh, G., Kemény-Beke, Á., Berta, A., Módis, L.: Assessment of endothelial cell density and corneal thickness in corneal grafts an average of 5 years after penetrating keratoplasty.  
*Wien. Klin. Wochens.* 126 (9-10), 286-290, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00508-014-0524-6>  
IF:0.836
3. Módis, L., Szalai, E., Kertész, K., Kemény-Beke, Á., **Kettesy, B.**, Berta, A.: Evaluation of the corneal endothelium in patients with diabetes mellitus type I and II.  
*Histol. Histopathol.* 25 (12), 1531-1537, 2010.  
IF:2.502





---

**További Közlemények**

4. **Kettesy B.**: Betekintés a kontaktlencse történetébe.  
*Szemészet. 151 (3), 30-34, 2014.*
5. Fodor, M., Kolozsvári, B.L., Petrovski, G., **Kettesy, B.**, Gogolák, P., Rajnavölgyi, É., Ujhelyi, B., Módis, L., Petrovski, B., Szima, G.Z., Berta, A., Facskó, A.: Effect of contact lens wear on the release of tear mediators in keratoconus.  
*Eye Contact Lens. 39 (2), 147-152, 2013.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/ICL.0b013e318273b35f>  
IF:1.679
6. **Kettesy, B.**, Módis, L., Berta, A., Kemény-Beke, Á.: Keratoplasty in Contact Lens Related Acanthamoeba Keratitis.  
In: Keratoplasties : Surgical Techniques and Complications. Ed.: Luigi Mosca, InTech, Rijeka, 31-52, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/21621>
7. Kemény-Beke, Á., Szabados, L., Barna, S., Varga, J., Galuska, L., **Kettesy, B.**, Gesztelyi, R., Juhász, B., Tóth, L., Berta, A., Garai, I.: Simultaneous Dacryocystography And Dacryoscintigraphy Using Spect/Ct In The Diagnosis Of Nasolacrimal Duct Obstruction.  
*Clin. Nucl. Med. 37 (6), 609-610, 2012.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/RLU.0b013e31824d2751>  
IF:2.955
8. Kolozsvári B., Fodor M., Szima G.Z., **Kettesy A.B.**, Ujhelyi B., Rajnavölgyi É., Gogolák P., Berta A., Petrovski G., Facskó A.: A kontaktlencse-viselés hatása a könnyben lévő mediátorokra keratoconus esetén.  
*Szemészet. 148 (3-4), 129-133, 2011.*
9. Módis L., **Kettesy B.**, Szalai E., Fodor M., Berta A.: Endothelialis keratoplasztikával szerzett tapasztalatok.  
*Szemészet. 146 (2), 35-41, 2009.*
10. **Kettesy, B.**, Módis, L., Komár, T., Berta, A.: Akanthamöbenkeratitis bei Kontaktlinsenträgern in der Patientenpopulation der Augenklinik Debrecen.  
*Ophthalmologie. 107 (6), 537-542, 2009.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00347-009-2012-3>  
IF:1





11. **Kettesy B.**, Komár T., Berta A., Módis L.: Az Acanthamoeba-keratitisről.  
*Orv. Hetil.* 149 (43), 2037-2045, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2008.28476>
12. **Kettesy B.**, Berta A., Módis L.: Donor corneák spekulár-mikroszkópos vizsgálata.  
*Szemészet.* 144, 187-190, 2007.
13. Nagy, V., **Kettesy B.**, Tóth, K., Vámosi, P., Damjanovich, J., Berta, A.: Die Klinik des Morning-glory-Syndroms: Eine Falldarstellung.  
*Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 219 (11), 801-805, 2002.  
IF:0.534
14. Módis L., Németh G., Takács L., Csutak A., **Kettesy B.**, Berta A.: Corneakonzerváló folyadékok összehasonlító vizsgálata.  
*Szemészet.* 138 (1), 5-10, 2001.
15. Módis L., **Kettesy B.**, Kemény-Beke Á., Berta A.: A cornealis endothelium diabetes mellitusban.  
*Szemészet.* 137 (3), 157-161, 2000.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 10,616**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 4,448**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2015.09.28.



### **Az értekezés témájához kapcsolódó előadások jegyzéke**

**Kettesy B.:** Első Klinikai tapasztalataink 67% lotrafilcon B lágyszekély kontaktlencsével: szubjektív értékelés és a cornea spekulár mikroszkópos vizsgálata (MSZT, Szeged 2005)

**B. Kettesy:** Spekulár microscopic analysis of donor corneas (SOE-DOG, Berlin 2005)

**Kettesy B.:** A spekulár mikroszkópia (DE OEC továbbképző tanfolyam, 2007)

**Kettesy B.:** Donor corneák spekulár mikroszkópos vizsgálata (PH.D szimpózium, Debrecen, 2009)

### **Az értekezés témájában megjelent idézhető absztrakt**

Módis L., **Kettesy B.**, Kemény-Beke Á., Berta A.: A corneális endothelium diabetes mellitusban, Szemészet 137:157-161(2000)

**Kettesy B.**, Losonczy G., Berta A.: Első klinikai tapasztalataink 67% lotrafilcon B lágyszekély kontaktlencsével: szubjektív értékelés és a cornea spekulármikroszkópos vizsgálata Szemészet 142: S133-134 (2005)

Vajas A., **Kettesy B.**, Takács L., Barnóth S., Módis L., Berta A.: A cornea endothelium hosszú távú kontaktlencse viselés indukálta változásai Szemészet 142: S135 (2005)

**Kettesy B.**, Bujdosó A, Feminger A.: Amit a szilikon hidrogélekről tudni kell Szemészet 144:S14-15 (2007)

Németh G., **Kettesy B.**, Berta A., Módis L.: Változások a corneális endothelium morfológiájában perforáló keratoplasztika után Szemészet 144:S72 (2007)

**Kettesy B.**, Berta A., Módis L.: Donor corneák spekulár-mikroszkópos vizsgálata Szemészet 144:187-190 (2007)

### **Egyéb idézhető absztraktok**

**Kettesy B.**, Vámosi P., Németh G., Berta A.: Phacoemulsificatio utáni cornealis változások spekulár mikroszkópos vizsgálata korai posztoperatív szakban. Szemészet 139: S27 (2002)

Bessenyei E., **Kettesy B.**, Berta A.: Kontaktlencse viselés keratoconusos betegeknél Szemészet 142: S132-133 (2005)

**Kettesy B.**, Nagy A., Berta A.: Kontaktlencse viselés gyermekkorban Szemészet 143: S58-59 (2006)

**Kettesy B.**, Komár T., Imre L., Módis L.: Az acanthamoeba keratitisről Szemészet 143: S59 (2006)

**Kettesy B.**, Módis L., Berta A.: Kontaktlencse illesztés perforáló keratoplasztika után Szemészet 143:..S58-59 (2006)

**Kettesy B.**, Bujdosó A, Feminger A.: Beszámoló a BCLA 2007. évi kongresszusáról Szemészet 144:S14 (2007)

**Kettesy B.**, Bujdosó A, Feminger A.: Amit a szilikon hydrogélekről tudni kell Szemészet 144:S14-15 (2007)

**Kettesy B.**, Ujhelyi B., Berta A.: Színes kontaktlencsék klinikai alkalmazása Szemészet 145:S60-61 (2008)

Ujhelyi B., **Kettesy B.**, Berta A.: Recidiváló cornea erózió kialakulása szemfelszíni sérülések után Szemészet 145:S99-100 (2008)

Papp E, Vajas A, Facskó A, Nagy V, **Kettesy B.**, Losonczy G, Kolozsvári B, Ujhelyi B, Berta A.: Intravitrealis ranibizumab-injekciót követő intraoculáris szemnyomásváltozások időbeni lefolyása Szemészet 146:S67-68 (2009)

Módis L, **Kettesy B.**, Szalai E, Fodor M, Berta A Endotheliális keratoplasztikával szerzett tapasztalatok. SZEMÉSZET 146: pp. 35-41. (2009)

**Kettesy B.** Bujdosó A., Feminger A.: A kontaktlencse viselés szövődményei kurzus Szemészet 147:S120 (2010)