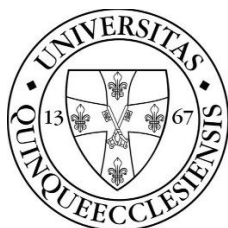


A diabétesz mellitusz és a COVID-19 betegség  
mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti  
szövődményei

Doktori (Ph.D.) – értekezés tézisei

Dr. Kölkedi Zsófia

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola  
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos  
Programvezető: Prof. Dr. Vereczkei András  
Témavezető: Dr. Szalai Eszter



Pécsi Tudományegyetem, OGYDHT

Pécs

2023

## 1. Bevezetés

A súlyos akut légzőszervi szindrómát okozó koronavírus – 2 (SARS-CoV-2) által okozott betegség a tünetek széles spektrumát okozhatja, a láztól és az enyhe megfázástól kezdve egészen a súlyos légzési elégtelenségig és a halálig. A fertőzés alatt a betegek csaknem 90%-a számol be legalább egy neurológiai tünetről.<sup>1</sup> Az idegrendszeri érintettség eredete lehet a központi vagy a perifériás idegrendszer direkt károsodása, a vírus antigén hatása által keltett gyulladási válasz eredménye, valamint a fokozott véralvadás és az endotel diszfunkció.<sup>2</sup> A súlyos központi idegrendszeri történések mellett szív-érrendszeri katasztrófák is kialakulhatnak. A SARS-CoV-2 megtámadja az endotel sejteket, így mind az artériás, mind pedig a vénás oldalon mikro- és makrovaszkuláris szövődmények alakulhatnak ki.<sup>3</sup> Ismert, hogy a koronavírus betegség-2019-nek (COVID-19) szemészeti szövődményei is lehetnek. A szemfelszín számos környezeti hatás és infektív ágens számára kitett terület. A könnyfilmnek szerepe lehet a vírus replikációban SARS-CoV-2 fertőzés esetén. Számos antigén prezentáló sejtet be lehet azonosítani az egészséges corneában, mint például a dendritikus sejtek (DC) és a makrofágok. A DC-k a csontvelőből származó antigén prezentáló sejtek heterogén csoportja, döntő szerepük van mind a humorális, mind pedig a sejtes immunválaszban. Az antigén felismerését követően a dendritikus sejtek érési folyamaton mennek keresztül és az antigénnel való találkozás helyszínéről a limfoid szervekbe vándorolnak, ahol T limfocitákat stimulálnak. A corneális DC-k a bazális epitelium és a szubbazális idegi plexus szintjén helyezkednek el. Fertőzés, gyulladás vagy sérülés esetén nagy számban vándorolnak a perifériás cornea felől a szaruhártya centrális része felé. Kísérleti modelleken bizonyították, hogy a gyulladás hatással van az epiteliumban fellelhető DC-k éréseire és fenotípus változására is.<sup>4</sup>

A diabétesz mellitusznak (DM) két fő formáját különböztetjük meg: az 1-es típusú (T1DM) és a 2-es típusú (T2DM) cukorbetegséget. A T2DM a gyakoribb forma, a betegek közel 90-95%-át érinti. A Nemzetközi Diabétesz Szövetség adatai alapján 2021-ben a világon 537 millió, Európában 67 millió diabéteszes felnőtt élt. A cukorbetegségnek lehetnek makrovaszkuláris és mikrovaszkuláris szövődményei. A mikrovaszkuláris szövődmények jól ismert triászja a nefropátia, a neuropátia és a retinopátia. Az emelkedett vércukorszint által okozott endotel diszfunkció mind a makro-, mind pedig a mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásában kulcsfontosságú szerepet játszik. A cukorbetegség a szem minden szövetét károsíthatja. A vékonyrost

polineuropátia és a retinopátia a diabétesz hosszútávú mikrovaszkuláris szövődményei közé tartoznak. A diabéteszes retinopátia (DR) a DM leggyakoribb szemészeti szövődménye, társadalmunkban a vakság vezető okai közé tartozik. Bár a DR-t alapvetően a retina mikrovaszkuláris károsodásának tartjuk, számos tanulmány arra enged következtetni, hogy a retina neurovaszkuláris megbetegedéséről van szó.<sup>5</sup>

A DR jelenléte fokozott kockázatot jelent a szisztémás vaszkuláris szövődmények szempontjából is. A szemészeti vizsgálat során talált eltérések nem csak a szemgolyó, hanem az egész szervezet állapotára következtetni engednek. A retinális mikrovaszkuláris károsodás szoros összefüggést mutat a diabéteszes polineuropátia súlyosságával. A diabéteszes corneális neuropátia oka a tartós hiperglikémia okozta nervus trigeminus érintettség, amely a cornea beidegzésének károsodását eredményezi.

A modern szemészeti vizsgálóeljárásokkal a retina kapilláris hálózata, a choriokapilláris, a látóidegfő és a szaruhártya perifériás idegei kvalitatív és kvantitatív módon vizsgálhatók. Korábbi kutatások bizonyították, hogy diabéteszes betegeknél in vivo konfokális mikroszkópiával (IVCM) a cornea sejtes elemei és a szubbazális idegrostok morfológiája eltérést mutatnak a szemfenéken látható elváltozások hiányában is, már jóval a neuropátia, a retinopátia vagy a mikroalbuminuria megjelenése előtt. Az IVCM alkalmas a perifériás idegek és a gyulladással járó sejtek minőségi és mennyiségi elemzésére egészséges és gyulladással járó szaruhártya esetén is. Az optikai koherencia tomográfia angiográfia (OCTA) a konfokális mikroszkópiához hasonlóan non-invazív eljárás, amely kontrasztanyag adása nélkül teszi láthatóvá és kvantifikálhatóvá a retinális kapilláris hálózatokat és a choriokapillárisokat. Az OCTA a vérerekben lévő vörösvértestek mozgását használja fel a képzéséhez a környező statikus struktúrákhoz viszonyítva. Diabéteszben a kapilláris elzáródás és nonperfúzió az egyik korai esemény, amely ischaemiához és szöveti károsodáshoz vezet. A COVID-19 világjárvány következtében kialakuló multisztémás betegség mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szövődményeit egyre szélesebb körben tanulmányozzák. A kórképnek szemészeti manifesztációja, illetve részjelensége is ismert. Patofiziológiájukat tekintve a diabétesz és a COVID-19 betegség számos aspektusban hasonló komplikációkhoz vezethet.

## **2. Célkitűzés**

Célul tűztük ki enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzésen átesett személyek corneális és retinális neurodegeneratív, valamint a látóhártya mikrovaszkuláris elváltozásainak vizsgálatát non-invazív klinikai módszerekkel, valamint az elváltozások korrelációjának tanulmányozását. Vizsgálatunk további célja volt, hogy a szaruhártya sejtes és ultrastrukturális elváltozásait tanulmányozzuk, valamint kvantifikáljuk a neuroinflammatorikus folyamatokat COVID-19 betegéget követően.

Vizsgálatsorozatunk másik célja 1-es és 2-es típusú cukorbetegség látóhártyát és szaruhártyát érintő neurodegeneratív, valamint retinális mikrovaszkuláris elváltozásainak vizsgálata non-invazív klinikai módszerekkel. Olyan biomarkerek kidolgozását tervezzük, amelyek időben jelzik a progresszív lefolyást és általuk a későbbi visszafordíthatatlan retinális és corneális szövődmények megelőzése lehetővé válik. A szemészeti manifesztáció korai észlelése terápiás jelentőségű, ezzel a későbbi morbiditás megelőzhető. További célunk annak vizsgálata, hogy a retinális mikrovaszkuláris vagy a corneális neurodegeneratív elváltozások alakulnak ki korábban diabéteszes betegeknél.

### **Kutatómunka fő feltevései:**

1. Igazoltan SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegek esetén in vivo konfokális mikroszkópiával különböző fokú idegrost morfológiai eltérések mutathatók ki, OCT angiográfia során mikrovaszkuláris elváltozások valószínűsíthetők.
2. Az in vivo konfokális mikroszkópiával demonstrálható sejtes és idegi struktúrákat érintő elváltozások súlyossága a szaruhártyában korrelál a cukorbetegség stádiumával, valamint az egyéb klinikai szövődmények súlyosságával.
3. Az OCT angiográfiával észlelt retinális kapilláris plexus anomáliák már a diabétesz mellitusz korai stádiumában kimutathatók és az eltérések súlyossága az alapbetegség stádiumával korrelál.
4. Az in vivo konfokális mikroszkópiával detektálható elváltozásokkal egy időben, mindenféle klinikai tünet vagy jel megjelenése előtt felfedezhetőek retinális mikrovaszkuláris elváltozások, amelyek a diabéteszes retinopátia súlyosbodásával fokozódnak.

### **3. Betegek és módszerek**

#### **3.1. Beteganyag**

##### **3.1.1. Az enyhe COVID-19 betegség mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövődményeinek vizsgálata**

Vizsgálatunkat 63 egyénen végeztük el. Harmincöt, polimeráz-lánreakció (PCR) - teszttel igazolt, kórházi kezelést nem igénylő, enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzéssel átesett beteget és 28 egészséges kontrollt vontunk be a kutatásba. A vizsgálatba bevont személyek COVID-19 betegség elleni vakcinálásban nem részesültek. Az egészséges csoportba beválasztottak anamnézisében nem szerepelt jelenleg zajló vagy krónikus szisztémás és szemészeti megbetegedés. Mindkét csoportban kizáró tényező volt a kontaktlencse viselés és a szemsebészeti beavatkozás.

##### **3.1.2. A szaruhártya neuroinflammatorikus eltéréseinek vizsgálata SARS-CoV-2 fertőzést követően**

Tanulmányunkba 71 személyt vontunk be, 30 PCR - teszttel igazolt, enyhe SARS-CoV-2 infekción átesett és 41 korazonos egészséges egyént. COVID-19 betegség elleni oltásban egyik csoport résztvevői sem részesültek. A kontroll csoportba beválasztottak szisztémás megbetegedésben nem szenvedtek. A COVID-19 csoportban kizáró tényező volt a fertőzést megelőző általános megbetegedés, beleértve a metabolikus vagy a kardiovaszkuláris megbetegedést is. Egyik csoport résztvevőinek anamnézisében sem szerepelt jelenleg zajló vagy korábbi szemészeti betegség, kontaktlencse viselés vagy szemmegnyitó műtét.

##### **3.1.3. A diabétesz mellitusz mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövődményeinek vizsgálata**

A vizsgálatba 52 diabéteszes személyt, köztük 10 T1DM-es és 42 T2DM-es, valamint 35 egészséges kontrollt vontunk be. A beválasztott egyének anamnézisében nem szerepelt szemészeti műtét, trauma, 3 dioptriát meghaladó szférikus vagy cilinderes fénytörési hiba, valamint jelenleg zajló vagy korábbi szemészeti megbetegedés. A diabéteszes csoportban enyhe NPDR megengedett volt, a maculaödémás betegeket kizártuk a vizsgálatból. Az egészséges csoportban kizáró tényező volt a jelenleg zajló vagy krónikus szisztémás megbetegedés jelenléte.

A diabéteszes retinopátia stádiumának meghatározására az „International Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale” -t használtuk.

### **3.2. Alkalmazott vizsgálatok**

A vizsgálati protokoll mindegyik vizsgálatban magába foglalta a látóélesség meghatározását, a réslámpás vizsgálatot, az indirekt oftalmoszkópiát, a szemnyomás-mérést, a szemfelszín, valamint a szemfenék képalkotó vizsgálatait, úgymint in vivo konfokális mikroszkópia (Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering, Németország), elülső (Anterion, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Németország) és hátsó szegmentum optikai koherencia tomográfia (OCT), OCT angiográfia (DRI Triton Plus, Topcon, Tokió, Japán) és színes fundus fotó. A méréseket minden vizsgálatba bevont egyén mindkét szemén elvégeztük, majd a random módon kiválasztott szem adatait elemeztük.

A retinális érhálózat kvantitatív elemzéséhez és a rétegek szegmentálásához az OCTA beépített szoftverét (IMAGeNet 6 Version 1.26.16898, Topcon) alkalmaztuk. A foveoláris avaszkuláris zóna (FAZ) körbe rajzolása manuálisan történt a szuperficiális kapilláris hálózatról készült OCTA felvételeken. Az átlagos retinális idegrostréteg (RNFL) vastagságot a látóidegfőre centrált, 3,4 mm sugarú körben a készülék beépített szoftvere segítségével határoztuk meg a 3D Disc OCT felvételeken. A maculára centrált HD Raster OCT felvételeken az automatikusan szegmentált vastagsági térkép felhasználásával a ganglionsejt-komplex, a centrális retina és a centrális chorioidea vastagságát értékeltük.

A szubbazális plexusról minden vizsgált szem esetében három jó minőségű IVCN képet elemeztünk az ACCMetrics szoftver V3 (University of Manchester, Manchester, Egyesült Királyság) segítségével a corneális idegek kvantifikálásához. A cornea szubbazális idegrostjaival kapcsolatban vizsgáltuk a corneális szubbazális idegrost denzitást, az idegrost elágazódás denzitást, az idegrost hosszt, a teljes idegrost elágazódás denzitást, az idegrost területet, valamint az idegrost szélességet. A diabéteszes csoportban vizsgáltuk a fraktál dimenziót is. A corneális bazális epitel sejtek, az endotel sejtek, az elülső és hátsó stroma keratocyták, valamint a dendritikus sejtek sűrűségét a készülék beépített szoftvere segítségével határoztuk meg. A dendritikus sejtek számolását a centrális corneális epiteliumban végeztük. A dendritikus sejtek területének méréséhez az

IVCM felvételeken az ImageJ szoftvert (<http://imagej.nih.gov/ij/>; National Institute of Health, Bethesda, MD, USA) használtuk.

## **4. Eredmények**

### **4.1. Az enyhe COVID-19 betegség mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövődeményeinek vizsgálata**

Az első pozitív PCR - teszt és a szemészeti vizsgálat között átlagosan  $13,5 \pm 6,1$  hét telt el. Szignifikánsan alacsonyabb corneális szubbazális idegrost denzitás ( $p=0,0009$ ), idegrost elágazódás denzitás ( $p=0,0004$ ), idegrost hossz ( $p<0,0001$ ), teljes idegrost elágazódás denzitás ( $p=0,002$ ) és idegrost terület ( $p=0,0001$ ) értéket találtunk a SARS-CoV-2 fertőzésen átesett csoportban az egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Az idegrost szélességben nem volt szignifikáns különbség a két csoport között ( $p=0,421$ ).

A centrális chorioidea vastagság nagyobb volt a normál csoportban, azonban statisztikailag szignifikáns különbség nem volt a 2 csoport között ( $p=0,101$ ). A retinális vaszkuláris denzitás a szuperficiális kapilláris hálózat (SCP) temporális részén szignifikánsan alacsonyabb volt a poszt-COVID csoportban, a többi retinális felszínes és mély kapilláris hálózat (DCP) denzitás értékben statisztikailag szignifikáns különbséget nem találtunk. A FAZ területe nem mutatott számottevő különbséget a két csoport között ( $p=0,582$ ). A retinális idegrostréteg vastagsága magasabb volt a normál csoportban, de egyik idegrostréteg vagy ganglionsejt-komplex paraméter sem mutatott szignifikáns különbséget az egészséges és a poszt-COVID alanyok között.

### **4.2. A szaruhártya neuroinflammatorikus eltéréseinek vizsgálata SARS-CoV-2 fertőzést követően**

Az első pozitív PCR - teszt és a szemészeti vizsgálat között átlagosan  $13,93 \pm 6,13$  hét telt el. Az epitel sejtek ( $p=0,091$ ), az endotel sejtek ( $p=0,519$ ) és az elülső stroma keratocyták ( $p=0,693$ ) denzitásában nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. A hátsó stromában a keratocyta denzitás szignifikánsan alacsonyabb volt a SARS-CoV-2 infekción átesett betegeknél ( $p=0,0006$ ). A cornea centrális részén a dendritikus sejtek denzitása ( $p=0,0004$ ) és területe ( $p<0,0001$ ) is szignifikánsan nagyobb volt a COVID-19 betegségeen átesetteknél.

A poszt-COVID csoportban szignifikánsan megváltozott szubbazális idegrost morfológiát találtunk az egészségesekkel összehasonlítva minden paraméter tekintetében, kivéve az idegrost szélességet ( $p=0,116$ ).

Hiperreflektív, kerek, dendrittel nem rendelkező gyulladásosejteket azonosítottunk a SARS-CoV-2 fertőzésen átesetteknél. Hat SARS-CoV-2 infekción átesett betegnél szubbazális és stromális mikroneuromákat detektáltunk. Az *in vivo* konfokális mikroszkóppal készült felvételeken a poszt-COVID csoportban fokozott szubbazális idegrost tortuozitást, az idegrostokban folytonosság megszakítottságot, valamint a stromális idegrostok gyöngyfűzészerű megjelenését azonosítottuk.

#### **4.3. A diabétesz mellitusz mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövődményeinek vizsgálata**

A diabéteszeseknél az átlagos betegségfennállás  $11,17 \pm 11,73$  év volt. Tíz T1DM-es és 42 T2DM-es beteg beválasztására került sor. Az átlagos HbA1c érték  $7,28 \pm 1,33\%$  volt. A szemfenék vizsgálat során az egészséges csoportban kóros elváltozás nem volt látható. A diabéteszes csoportban 44 beteg esetében nem volt jele diabéteszes retinopátiának, 8 betegnél néhány mikroaneurizma volt azonosítható (enyhe non-proliferatív diabéteszes retinopátia). Az elülső szegmens vizsgálatánál egyik csoportban sem találtunk kóros eltérést.

Az egészséges kontrollokkal összehasonlítva a diabéteszes csoportban az idegrost szélességen kívül ( $p=0,586$ ) az összes szubbazális idegrost paraméter szignifikánsan csökkent. Nem volt szignifikáns különbség a centrális retina vastagságában a két csoport között ( $p=0,089$ ). Szignifikánsan alacsonyabb centrális chorioidea vastagságot detektáltunk a diabéteszes csoportban ( $p=0,016$ ). A diabéteszeseknél a felszínes kapilláris hálózatban az érsűrűség szignifikánsan alacsonyabb volt a felső ( $p < 0,0001$ ), a temporális ( $p=0,001$ ) és a nazális ( $p=0,003$ ) kvadránsban. A mély kapilláris hálózatban egyedül a felső kvadránsban észleltünk szignifikánsan csökkent kapilláris denzitást a diabéteszes csoportban ( $p=0,036$ ). A foveoláris avaszkuláris zóna a diabéteszes csoportban megnagyobbodott a kontroll csoporthoz képest, azonban szignifikancia tekintetében az eredmény határértéken volt ( $p=0,051$ ). A ganglionsejt-réteg (GCL) vastagsága szignifikánsan alacsonyabb volt a diabéteszes csoportban. Szignifikáns inverz korreláció volt kimutatható a betegség fennállás és a vaszkuláris denzitás között az SCP felső ( $r=-0,539$ ,  $p < 0,0001$ ), temporális ( $r=-0,557$ ,  $p < 0,0001$ ), alsó ( $r=-0,433$ ,  $p=0,005$ ) és nazális ( $r=-0,372$ ,  $p=0,015$ ) kvadránsában, valamint a betegség fennállás és a DCP alsó



( $r=-0,369$ ,  $p=0,019$ ) és nazális ( $r=-0,458$ ,  $p=0,003$ ) kvadránsának kapilláris sűrűsége között.

## 5. Megbeszélés

### 5.1. Az enyhe COVID-19 betegség mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövödményei

Vizsgálatunk során a poszt-COVID csoportban csökkent idegrost elágazódás denzitást, azaz alacsonyabb számú primer elágazódási pontot találtunk a fő ideg ágon és csökkent teljes idegrost elágazódás denzitást detektáltunk, ami a disztális idegrost ágak vesztését erősítette meg. Szignifikánsan alacsonyabb volt az idegrostok száma is a COVID-19 betegséget követően, mely a proximálisabb idegrostok érintettségre utal. Következésképpen szignifikánsan alacsonyabb volt az idegrost terület és az idegrost hossz a poszt-COVID csoportban. Az idegrost szélességben nem volt számottevő különbség a két csoport között. Más szerzők vizsgálata alapján az idegrost denzitásnak, az idegrost területnek, az idegrost hosszának és az idegrost elágazódás sűrűségének a neuropátia diagnózisánál van kiemelt szerepe, míg az idegrost szélesség a súlyosság fokát jelzi.<sup>6</sup> Az általunk vizsgált poszt-COVID csoportban a normál idegrost szélesség mellett észlelt idegrost károsodás enyhe vékonyrost neuropátiára utalhat.

Vizsgáltuk a retinális neurodegeneratív elváltozásokat is. Kvantifikálható neuronális veszteség nem volt detektálható a GCL-RNFL komplex vizsgálatával.

Tanulmányunkban a retina kapilláris hálózatának és a choriokapilláris mikrovaszkuláris elváltozásait is vizsgáltuk SARS-CoV-2 infekciót követően. Általánosságban megállapítható, hogy COVID-19 betegséget követően nem találtunk szignifikáns különbséget a vaszkuláris denzitás tekintetében sem a felszínes, sem pedig a mély kapilláris hálózatban az egészséges csoporttal összehasonlítva. Egyedül az SCP temporális kvadránsában volt szignifikánsan alacsonyabb az érsűrűség COVID-19 betegséget követően. Korábbi kutatások szerint diabéteszes betegeknél a temporális perifoveális régió vaszkuláris denzitása a legérzékenyebb a korai retinopátia szempontjából.<sup>7</sup> Egy 12 vizsgálatot elemző metaanalízis a COVID-19 betegségen átesetteknél szignifikánsan csökkent vaszkuláris denzitást talált a DCP-ben, valamint a szignifikancia határát el nem érő FAZ megnyagyobbodást.<sup>8</sup> Ismert, hogy súlyos COVID-19 fertőzés következtében mikrovaszkuláris és tromboembóliás szövödmények

alakulhatnak ki, emiatt a látóhártya esetleges mikrovaszkuláris eltéréseinek nyomon követése fokozott figyelmet érdemel.

Vizsgálatunkban *in vivo* konfokális mikroszkóppal különböző fokú corneális szubbazális idegrost morfológiai eltéréseket találtunk PCR - teszttel igazolt, enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzésen átesett egyéneknél. OCT angiográfiával releváns retinális mikrovaszkuláris eltérést nem detektáltunk és sem a ganglionsejt-komplex, sem a retinális idegrostréteg vizsgálata nem mutatta optikus neuropátia jelét a poszt-COVID csoportban.

Eredményeink rámutatnak, hogy perifériás neurodegeneratív elváltozások alakulhatnak ki enyhe vagy aszimptomatikus SARS-CoV-2 infekciót követően is. Az *in vivo* konfokális mikroszkóp alkalmasnak látszik a perifériás neuropátia vizsgálatára SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeknél.

## **5.2. A szaruhártya neuroinflammatorikus eltéréseinek vizsgálata SARS-CoV-2 fertőzést követően**

Vizsgálatunkban során szignifikánsan magasabb centrális corneális dendritikus sejt denzitást és területet találtunk az enyhe COVID-19 betegségen átesetteknél egészséges kontrollokkal összehasonlítva, valamint a SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeknél háromszoros DC sűrűséget figyeltünk meg. Korábbi vizsgálatok bebizonyították, hogy a nyúlványokkal rendelkező dendritikus sejtek valószínűleg érettek, míg a dendrit nélküli, kerek sejtek immunológiailag éretlenek.<sup>9</sup> Kutatásunk során mind érett dendritikus sejteket, mind pedig éretlen, kerek sejteket azonosítani tudtunk a SARS-CoV-2 fertőzésen átesetteknél.

A centrális corneában a dendritikus sejtek denzitásának és morfológiájának tanulmányozása mellett vizsgáltuk a corneális szubbazális idegrostok károsodását SARS-CoV-2 fertőzést követően. A COVID-19 betegségen átesett csoportnál statisztikailag szignifikáns idegrost veszteséget és morfológiai elváltozásokat detektáltunk *in vivo* konfokális mikroszkópiával. A SARS-CoV-2 fertőzésen átesett betegeknél mikroneuromákat azonosítottunk a szubbazális idegi plexusban és a stromális idegekben. A mikroneuromák az idegkárosodás és az ideg regeneráció jelei lehetnek.<sup>10</sup> Korábbi szerzők a COVID-19 betegséget követően kialakuló corneális mikroneuromákat idegi károsodást okozó gyulladásos és immun-mediált folyamatoknak tulajdonították.<sup>11</sup> További, SARS-CoV-2 infekciót követően kialakuló idegrost morfológiai eltérések közé tartozik a fokozott idegrost tortuozitás, az idegrostok folytonosság megszakítotttsága és

gyöngyfűzészerű megjelenése. Szemfelszíni gyulladós megbetegedések estén a szubbazális iberostok fokozott tortuozitása a regenerációs folyamatoknak tulajdonítható.<sup>12</sup> Az idegrostok gyöngyfűzészerű megjelenését neuropátiás corneális fájdalomhoz kapcsolódóan írták le, de egészséges egyéneknél is megjelenhet, a szerzők szerint magasabb metabolikus aktivitást jelez.<sup>13,14</sup>

Vizsgálatunkban a corneális bazális epitel sejt, az elülső stroma keratocita és az endotel sejt denzitás nem mutatott szignifikáns változást SARS-CoV-2 fertőzést követően. Alacsonyabb hátsó stroma keratocita sűrűséget detektáltunk a poszt-COVID csoportban. Cukorbeteg felnőtteknél alacsonyabb hátsó stroma keratocita denzitást mutattak ki, mely corneális idegrost veszteséggel társult.<sup>15</sup>

Tanulmányunk során perifériás vékonyrost károsodást tudtunk kimutatni gyulladós dendritikus sejtek jelenléte mellett enyhe COVID-19 betegséget követően.

Vizsgálatunk legjelentősebb eredménye, hogy COVID-19 betegséget követően a szaruhártya centrális részében az érett dendritikus sejtek száma megháromszorozódott az egészséges kontrollokkal összehasonlítva. A szubbazális idegrostok szignifikáns csökkenése és megváltozott morfológiája szintén megfigyelhető volt, mint az idegi károsodás és regeneráció indikátora. A szaruhártya sejtszintű és ultrastrukturális elváltozásai a COVID-19 betegség corneára gyakorolt neuroinflammatorikus hatását erősítik meg.

### **5.3. A diabétesz mellitusz mikrovaszkuláris és neurodegeneratív szemészeti szövődményeinek vizsgálata**

Megváltozott corneális idegrost morfológiát találtunk diabéteszes betegeknél diabéteszes retinopátia hiányában is. Munkacsoportunk korábban fiatal T1DM-es betegeknél szignifikánsan alacsonyabb teljes idegrost elágazódás sűrűséget detektált egészséges egyénekkel összehasonlítva. Az eredmény a vékonyabb, disztálisabb idegágak elsődleges károsodását erősítette meg. Az idegrost területben nem volt szignifikáns különbség a diabéteszes és a kontroll csoport között, feltételezhetően a fő idegág korai megőrzöttsége miatt. Jelen vizsgálatban az idegrost szélesség nem mutatott szignifikáns különbséget a diabéteszes és az egészséges csoport között, mely eredmény megerősíti azt a korábbi feltevést, hogy a korai károsodás kifejezettebb a disztális idegi ágakban.

Vizsgálatunkban a retinális vaszkuláris denzitás szignifikánsan csökkent az SCP felső, temporális és nazális kvadránsában a diabéteszes csoportban. A DCP-ben egyedül a felső

kvadráns érsűrűsége csökkent szignifikánsan a diabétesz mellituszban szenvedőknél. Más szerzőkhöz hasonlóan vizsgálatunk során OCTA-val korai retinális mikrovaszkuláris elváltozásokat azonosítottunk még az oftalmoszkóppal látható elváltozások megjelenése előtt. Korábbi vizsgálatokban az SCP parafoveális érsűrűségét a látásromlást előre jelző biomarkerként azonosították diabéteszes betegeknél.<sup>16</sup> Kutatásunkban a FAZ területének megnagyobbodását detektáltuk a cukorbeteg csoportban. A ganglionsejt-komplex vastagsága szignifikánsan csökkent az általunk vizsgált diabéteszes csoportban. Más szerzők korrelációt írtak le a ganglion sejttest vesztés, a retinális vaszkuláris elváltozások, valamint a diabéteszes retinopátia súlyossága között.<sup>17</sup> Korábbi kutatások rávilágítottak a neurodegeneratív és a mikrovaszkuláris elváltozások közti összefüggésre diabétesz mellitusz esetén. A GCL és az RNFL vastagság változását korai diabéteszben neuroretinális degenerációként azonosították, mely előre jelezheti a mikrovaszkuláris károsodást.<sup>18</sup> Egy friss tanulmány szerint a mikrovaszkuláris károsodásokkal a betegség fennállás ideje szoros kapcsolatot mutat, mely összefüggés fiatal életkor esetén kifejezettebb volt.<sup>19</sup> Korrelációs vizsgálatunk megerősítette a fenti eredményt, diabéteszeseknél a betegség fennállás előrehaladtával arányosan csökkent az érsűrűség a felszínes kapilláris hálózat mind a négy kvadránsában, valamint a mély kapilláris plexus alsó és nazális kvadránsában.

## 6. Új eredmények összefoglalása

Kutatómunkánk eredményeként az irodalomban elsőként közöltük OCT angiográfiával és in vivo konfokális mikroszkóppal szimultán végzett vizsgálatok adatait a retinális mikrovaszkuláris károsodás és a corneális neurodegeneráció egyidejű kimutatására.

1. Kutatásunk során hospitalizációt nem igénylő, enyhe vagy tünetmentes SARS-CoV-2 infekción átesett, oltatlan betegeknél tanulmányoztuk a mikrovaszkuláris és a neurodegeneratív elváltozásokat. A corneális szubbazális idegrostok paramétereiben szignifikáns csökkenést és megváltozott morfológiát mutattunk ki retinális neurodegeneratív és mikrovaszkuláris eltérések nélkül COVID-19 betegségeen átesetteknél. Összetett vizsgálatunk eredményeként az irodalomban elsőként publikáltuk a corneális és retinális neurodegeneráció és a retinális mikrovaszkuláris eltéréseket és azok összefüggését SARS-CoV-2 fertőzést követően.

2. SARS-CoV-2 fertőzést követően idegi károsodásra és regenerációra utaló jeleket azonosítottunk a szaruhártya szubbazális idegi plexusában. Az infekción átesett betegeknél mikroneuromákat detektáltunk a szubbazális idegi plexusban és a stromális idegek szintjében is. Vizsgálatunkban szignifikánsan magasabb corneális dendritikus sejt sűrűséget és területet találtunk az enyhe COVID-19 betegségeen átesetteknél egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Az irodalomban először közöltük a cornea sejtes és ultrastrukturális eltéréseit a SARS-CoV-2 fertőzést követően, melyek a betegség neuroinflammatorikus következményeit demonstrálhatják a szaruhártyában egyéb szemészeti eltérés hiányában.

3. Vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a corneális szubbazális idegrost morfológia és a retinális kapilláris sűrűség szignifikánsan megváltozik diabétesz mellitusz esetén még az oftalmoszkóppal látható szemfenéki elváltozások megjelenése előtt. Eredményeink alapján diabétesz mellituszban a corneális idegrostok a retinális mikrovaszkulaturával összehasonlítva korábbi és kifejezettebb károsodást szenvednek. Tudomásunk szerint az irodalomban elsőként publikáltuk a cornea szubbazális idegi plexusának és látóhártya kapilláris hálózatának egyidejű károsodását ugyanazon betegpopuláción manifeszt diabétesz esetén.

## 7. Irodalomjegyzék

1. Liguori C, Pierantozzi M, Spanetta M, et al. Subjective neurological symptoms frequently occur in patients with SARS-CoV2 infection. *Brain Behav Immun.* 2020;88:11-16. doi:10.1016/j.bbi.2020.05.037.
2. Dinkin M, Sathi S. Efferent neuro-ophthalmic complications of coronavirus disease 2019. *Curr Opin Ophthalmol.* 2022;33:471-484. doi:10.1097/ICU.0000000000000904.
3. Pons S, Fodil S, Azoulay E, et al. The vascular endothelium: The cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Crit Care.* 2020;24:4-11. doi:10.1186/s13054-020-03062-7.
4. Hamrah P, Huq SO, Liu Y, et al. Corneal immunity is mediated by heterogeneous population of antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol.* 2003;74:172-178. doi:10.1189/jlb.1102544.
5. Abcouwer SF, Gardner TW. Diabetic retinopathy: loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1311:174-190. doi:10.1111/nyas.12412.Diabetic.
6. Brines M, Culver DA, Ferdousi M, et al. Corneal nerve fiber size adds utility to the diagnosis and assessment of therapeutic response in patients with small fiber neuropathy. *Sci Rep.* 2018;8:1-11. doi:10.1038/s41598-018-23107-w.
7. Alam M, Zhang Y, Lim JI, et al. Quantitative Optical Coherence Tomography Angiography Features for Objective Classification and Staging of Diabetic Retinopathy. *Retina.* 2020;40:322-332. doi:10.1097/IAE.0000000000002373.
8. Kazantzis D, Machairoudia G, Theodossiadis G, et al. Retinal microvascular changes in patients recovered from COVID-19 compared to healthy controls : A meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2023;42:103556. doi:10.1016/j.pdpdt.2023.103556.
9. Postole AS, Knoll AB, Auffarth GU, et al. In vivo confocal microscopy of inflammatory cells in the corneal subbasal nerve plexus in patients with different subtypes of anterior uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2016;100:1551-1556. doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307429.
10. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: A review. *Acta Orthop.* 1987;58:145-169. doi:10.3109/17453678709146461.
11. Ross AR, Al-Aqaba MA, Almaazmi A, et al. Clinical and in vivo confocal

- microscopic features of neuropathic corneal pain. *Br J Ophthalmol*. 2019;104:768-775. doi:10.1136/bjophthalmol-2019-314799.
12. He J, Ogawa Y, Mukai S, et al. In Vivo Confocal Microscopy Evaluation of Ocular Surface with Graft-Versus-Host Disease-Related Dry Eye Disease. *Sci Rep*. 2017;7:10720. doi:10.1038/s41598-017-10237-w.
  13. Moein HR, Akhlaq A, Dieckmann G, et al. Visualization of microneuromas by using in vivo confocal microscopy: An objective biomarker for the diagnosis of neuropathic corneal pain? *Ocul Surf*. 2020;18:651-656. doi:10.1016/j.jtos.2020.07.004.
  14. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, et al. Corneal nerves: Structure, contents and function. *Exp Eye Res*. 2003;76:521-542. doi:10.1016/S0014-4835(03)00050-2.
  15. Kalteniece A, Ferdousi M, Azmi S, et al. Keratocyte Density Is Reduced and Related to Corneal Nerve Damage in Diabetic Neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:3584-3590. doi:10.1167/iovs.18-23889.
  16. Ghassemi F, Fadakar K, Berijani S, et al. Quantitative assessment of vascular density in diabetic retinopathy subtypes with optical coherence tomography angiography. *BMC Ophthalmol*. 2021;21:1-13. doi:10.1186/s12886-021-01831-8.
  17. Qiu B, Zhao L, Zhang X, et al. Associations Between Diabetic Retinal Microvasculopathy and Neuronal Degeneration Assessed by Swept-Source OCT and OCT Angiography. *Front Med*. 2021;8:1-14. doi:10.3389/fmed.2021.778283.
  18. Mrugacz M, Bryl A, Zorena K. Retinal vascular endothelial cell dysfunction and neuroretinal degeneration in diabetic patients. *J Clin Med*. 2021;10:1-18. doi:10.3390/jcm10030458.
  19. Zoungas S, Woodward M, Li Q, et al. Impact of age, age at diagnosis and duration of diabetes on the risk of macrovascular and microvascular complications and death in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2014;57:2465-2474. doi:10.1007/s00125-014-3369-7.

## 8. Tudományos közlemények és kongresszusi összefoglalók jegyzéke

### Értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények jegyzéke:

Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Analysis of microvascular and neurodegenerative complications of mild COVID-19. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2022 Aug;260(8):2687-2693. doi: 10.1007/s00417-022-05623-8. (IF=3,535)

Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Corneal Cellular and Neuroinflammatory Changes After SARS-CoV-2 Infection. Cornea. 2022 Jul 1;41(7):879-885. doi: 10.1097/ICO.0000000000003018. (IF=3,152)

Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Pre-Ophthalmoscopic Quantitative Biomarkers in Diabetes Mellitus. Transl Vis Sci Technol. 2023 Mar 1;12(3):24. doi: 10.1167/tvst.12.3.24. (IF=3,048)

### Az értekezés alapjául szolgáló kongresszusi összefoglalók jegyzéke:

Kölkedi Z, Csutak A, Szalai E. SARS-CoV-2 fertőzés mikrovaszkuláris és neurodegeneratív komplikációi. Szemészet 2022; 159: Suppl I p. 48-49

Szalai E, Kölkedi Z, Csutak A. A szaruhártya neuroinflammatorikus eltérései SARSCoV-2 fertőzést követően. Szemészet 2022; 159: Suppl I p. 48

Kölkedi Z, Csutak A, Szalai E. Analysis of microvascular and neurodegenerative complications of mild COVID-19. Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2021: Book of Abstracts Pécs, Magyarország: Doctoral Student Association of the University of Pécs 2021; 128: p. 60



Egyéb tudományos közlemények jegyzéke:

Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Ocular Manifestations of Hurler-Scheie Syndrome: Recurrence of Host Disease in the Corneal Transplant. 2022 July. Mol Syndromol. doi.org/10.1159/000525453 (IF=1,494)

Kolkedi Z, Csutak A, Szalai E. Bilateral multifocal choroidal osteoma presented with optic disc edema. Indian J Ophthalmol Case Rep 2022; 2:830-1. doi:10.4103/ijo.IJO\_1922\_21

Gaál V, Kölkedi Z, Szapáry L, Csutak A, Szalai E. Akut arteria centralis retinae elzáródás; Az ocularis stroke induló terápiás programja. Orv Hetil. 2021 Nov 21;162(47):1871-1875. Hungarian. doi: 10.1556/650.2021.32283. (IF=0,707)

Szalai E, Toth N, Kolkedi Z, Varga C, Csutak A. Comparison of various intraocular lens formulas using a new high-resolution swept-source optical coherence tomographer. J Cataract Refract Surg. 2020 Aug; 46(8):1138-1141. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000329. (IF=3,351)

Kölkedi Z, Horváth A. Optikai koherencia tomográfia angiográfia jelentősége idiopátiás makuláris teleangiectasia kettes típusa esetén. Esetismertetés. Szemészet 2018; 155: 138-141

Nagy Á, Kölkedi Z, Horváth A, Biró Z. Multifokális chorioiditis esete. Esetismertetés. Szemészet 2018; 155: 121-124

Péntek M, Brodszky V, Biró Z, Kölkedi Z, Dunai Á, Németh J, Baji P, Rencz F, Gulácsi L, Resch MD. Subjective health expectations of patients with age-related macular degeneration treated with antiVEGF drugs. BMC Geriatr. 2017 Oct 10;17(1):233. doi: 10.1186/s12877-017-0619-9. (IF=2,866)

Kölkedi Z, Biró Z. Hurler-Scheie szindróma. Esetismertetés. Szemészet 2017; 154:102-105

Kölkedi Z, Horváth A, Tóth-Kovács K, Pámer Z, Biró Z. Befolyásolják-e életmódbeli tényezők a VEGF-gátló kezelés eredményességét nedves AMD-ben szenvedő betegeknél? Szemészet 2014; 151: 23-27

Kölkedi Z, Tóth-Kovács K, Pámer Z. Életminőség változása VEGF -gátlóval kezelt időskori maculadegenerációban szenvedő betegeknél. Szemészet 2010; 147:133-137

Egyéb kongresszusi összefoglalók jegyzéke:

Kölkedi Z. Időskori szemészeti betegségek és prevenciók lehetőségeik. Idősgyógyászat 8. évfolyam 1-2. szám 2023. március; p. 52

Kölkedi Z, Kovács D, Horváth A, Biró Z. Optikai koherencia tomográfia-angiográfia jelentősége idiopáthiás maculáris teleangiectasia megítélésében. Esetismertetés. Szemészet 2017; 154: Suppl I p. 9

Kölkedi Z, Kovács D, Horváth A, Biró Z. Intravitrealis bevacizumab injekcióval elért eredmények szemfenéki vénás okklúziót követő maculaödémában. Szemészet 2016; 153: Suppl I p. 42

Horváth A, Kölkedi Z, Biró Z. Lucentisre nem reagáló nedves AMD-s betegek Eylea kezelésének eredményei. Szemészet 2015; 152: Suppl I p. 91

Kölkedi Z, Horváth A, Biró Z. The results of intravitreal bevacizumab (Avastin) therapy in patients with retinal venous occlusion. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015; 56: Paper: 1811

Brodsky N, Péntek M, Biró Z, Kölkedi Z, Dunai Á, Németh J, Gulácsi L, Resch M. Időskori macula degenerációval élő betegek klinikai jellemzői és betegségterhei. Szemészet 2014; 151: Suppl I pp. 59-60.

Horváth A, Kölkedi Z, Pámer Z, Biró Z. Szemfenéki vénás occlusio intravitrealis Avastin injekcióval történő kezelésének eredményei. Szemészet 2014; 151: Suppl I p. 22

Kölkedi Z, Varsányi B, Biró Z. Gyermekkorai traumás maculalyuk - Esetismertetés. Szemészet 2014; 151: Suppl I p. 58

Kölkedi Z, Balogh T, Pámer Z, Biró Z. Hurler-Scheie-szindróma - Esetismertetés. Szemészet 2013; 150: Suppl I p. 93

Kölkedi Z, Tóth-Kovács K, Pámer Z. Befolyásolják-e életmódbeli tényezők a VEGF-gátló kezelés eredményességét nedves AMD-ben szenvedő betegeknél? Szemészet 2012; 149: Suppl I p. 53

Kölkedi Z, Tóth-Kovács K, Horváth A, Pámer Z. Az életminőség változása VEGF-gátlóval kezelt időskori maculadegenerációban szenvedő betegeknél. Szemészet 2011; 148: Suppl I p. 103

Az eddig megjelent publikációk összesített impakt faktora: 18,153

## 9. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Csutak Adrienne Professzornőnek, a PTE KK Szemészeti Klinika intézetvezető egyetemi tanárának, hogy a kutatások elvégzéséhez szükséges háttérteret megteremtette és a doktori értekezésem elkészítését intézetében lehetővé tette.

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Szalai Eszter egyetemi adjunktusnak a közös munkát. A kutatást mindvégig aktívan segítette és mind az elméleti, mind a gyakorlati kérdésekben sokoldalú tanáccsal látott el, támogatott, és az értekezés összeállításában is nélkülözhetetlen segítséget nyújtott.

Köszönöm a Szemészeti Klinika minden dolgozójának a betegek kiválasztása és vizsgálata során nyújtott lelkiismeretes segítséget.

Köszönetet mondok a PTE OGYDHT Doktori Iskola munkatársainak a tanulmányaim során tanúsított segítőkészségükért és kedvességükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a családomnak a türelmet és a támogatást, mely nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.