

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Autoreferát disertační práce



**CROSS-LINKING KOLAGÉNU POMOCÍ RIBOFLAVÍNU
A UVA ZÁŘENÍ PŘI KERATOKONU**

MUDr. Frederik Raiskup

Doktorský studijní program: Oční lékařství

Hradec Králové

2008

Obhajoba se koná před Komisí pro obhajoby disertačních
prací v doktorském studijním programu

Oční lékařství

ve středu 3. prosince 2008 od 14.30 hodin,

Budova porodnické a gynekologické kliniky ve FN HK
č. 9, posluchárna

OBSAH

1	Úvod	4
2	Cieľ práce	7
3	Pacienti a metodika	8
3.1	Pacienti	8
3.2	Metodika	9
4	Výsledky	11
5	Diskusia	16
6	Záver	21
7	Literatúra	23
8	Publikačná činnosť	27
8.1	Pôvodné články a state v zborníkoch	27
8.2	Abstrakty v časopisoch	29
8.3	Abstrakty v zborníkoch	29
8.4	Prednášky	30
9	Súhrn.....	34
10	Summary	35

Disertace byla vypracována v rámci kombinovaného studia v doktorském studijním programu Oční lékařství na Oční klinice Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Uchazeč: MUDr. Frederik Raiskup
Oční klinika Univerzity Karlovy v Praze,
Lékařské fakulty v Hradci Králové

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Rozsival, CSc.
Oční klinika Univerzity Karlovy v Praze,
Lékařské fakulty v Hradci Králové

Školitel - konzultant: Doc. MUDr. Jiří Řehák, CSc.
Oční klinika Univerzity Palackého v Olomouci

Oponenti: Doc. MUDr. Drahomíra Baráková, CSc.
Oční klinika Cornea Lexum Praha

Doc. MUDr. Jiří Pašta, CSc.
Oční klinika 1. LF UK a ÚVN Praha

S obsahem disertační práce je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38, Hradec Králové.

Stanovisko k disertační práci bylo vypracováno vedením Oční kliniky Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Prof. MUDr. Pavel Rozsival, CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu Oční lékařství

1 Úvod

Keratokónus patrí ku nezápalovým ektatickým ochoreniam rohovky, charakterizovaný kónickou formou tohoto tkaniva oka na základe progresívneho stenčovania. Toto progredujúce stenčovanie vedie postupne ku vzniku nepravidelného astigmatizmu a myopie, ktorých následkom je rôzny stupeň zníženia zrakovkej ostrosti. Ide väčšinou o obojstranné ochorenie, len veľmi zriedkavo sa diagnostikuje jednostranne a pri jeho obojstrannom výskyte je jeho intraindividuálna manifestácia v čase asymetrická. Začiatok manifestácie tohoto ochorenia spadá do obdobia puberty a dĺžka jeho aktivity a progresie je individuálne rôzna – do tretej až štvrtej dekády života. Väčšinou ide o ochorenie izolované, ale boli zaznamenané aj asociácie keratokónu s inými ochoreniami, ako sú: Down sy, Leberova kongenitálna amauroza, ochorenia spojivového tkaniva, prolaps mitrálnej chlopne. Častá je asociácia tohoto ochorenia s atopiou, manuálnym mechanickým dráždením povrchu oka a nosením tvrdých kontaktných šošoviek. Približne 6 až 14 % postihnutých má pozitívnu familiárnu anamnézu, resp. familiárna transmisia tohoto ochorenia je evidentná.

Incidencia keratokónu varíruje medzi 50 až 230 ochorení na 100 000 obyv. (ca 1 na 2000) a jeho prevalencia je 54,5 na 100 000 obyv.^{16,23,31}

Algoritmus manažmentu liečby, resp. korekcie keratokónu plne závisí od stupňa jeho progresie. Vo včasných štádiách je keratokónus korigovateľný **okuliarmi**, avšak väčšinou je najlepšie korigovaný vízus dosiahnuteľný **kontaktnými šošovkami** vzhľadom k tomu, že okuliarová korekcia nie je schopná ideálne kompenzovať osobitý tvar iregulárneho astigmatizmu. Touto najčastejšou optimálnou modalitou korekcie keratokónu - kontaktnými šošovkami, je možné korigovať asi 90% pacientov.²²

V závislosti od preferencií jednotlivých chirurgických pracovísk a ich indikačných kritérií, ku **transplantácii** rohovky je indikovaných od 21% až 45% všetkých prípadov keratokónu.^{11,35}

Fakické vnútročné šošovky sú vhodnou alternatívou riešenia refrakčných chýb pacientov s keratokónom s intoleranciou ku kontaktným šošovkám, resp. u pac. ktorí z iných dôvodov nekorigujú ich keratokónus kontaktnými šošovkami.⁷

Intrakorneálne prstence vedú k oplošteniu centra rohovky, a tým ku redukcii nepravidelného astigmatizmu a myopie pri keratokóne. Vhodnými kandidátmi sú pacienti s intoleranciou na kontaktné šošovky a transparentným centrom rohovky. Táto procedúra je vhodnou alternatívou u pacientov so zníženým compliance (napr.

Down sy). Reziduálnu sférickú a cylindrickú refrakčnú chybu po implantácii prstencov možno korigovať kontaktnými šošovkami.⁷

Všetky tieto modalities terapie predstavujú v prípade progresie ektatických zmien len dočasnú možnosť optimálnej korekcie, a v konečnom dôsledku i životnosť rohovkového transplantátu ako posledná možnosť korekcie pokročilého štádia keratokónu je obmedzená, a preto je stále aktuálna otázka hľadania inej, novej, podľa možnosti kauzálnej liečby progredujúcich ektatických degenerácií rohovky.

Spevnenie rohovky, tzv. crosslinking kolagénových lamiel rohovky pomocou riboflavínu a ultrafialového žiarenia je v súčasnosti najnovšou a možno povedať zatiaľ prvou kauzálnou terapiou progredujúcej ektázie rohovky, ktorej začiatky v oblasti experimentálnej oftalmológie datujeme do konca 90-tych rokov, kedy sa v tejto oblasti začali prvé pokusy na králičích a prasačích očiach na očnej klinike univerzitetnej nemocnice v Drážďanoch.

Vzhľadom k tomu, že keratokónus je najfrekvencovanejšou formou progredujúcej ektatickej degenerácie rohovky, na tomto ochorení boli neskôr uskutočnené aj klinické štúdie sledujúce efekt a vedľajšie účinky tejto novej formy liečby.

Sledovanie biomechanických vlastností ľudských keratektatických rohoviek odhalilo významné rozdiely v elasticite v porovnaní s normálnymi rohovkami, čo je dôvodom zníženej tuhosti rohoviek s keratokónom.¹

Prvé experimenty týkajúce sa crosslinkingu rohovky boli zamerané na hľadanie vhodnej metódy, ktorá by viedla ku efektívnemu zvýšeniu tuhosti rohovky s minimom nežiadúcich účinkov. Indukcia „cross-link“ väzieb je známa z oblasti polymérovej chémie, kde sa využíva na zvýšenie elastických vlastností rôznych biomateriálov.^{10,17}

V oftalmológii sa prvýkrát metóda crosslinkingu použila pri výrobe kolagénových biomateriálov na syntetickú epikeratoplastiku.¹²

Cieľom terapeuticko-technickej metódy crosslinking pri ektatických ochoreniach rohovky je zvýšenie počtu chemických väzieb v stróme rohovky pomocou procesu fotopolymerizácie v predných vrstvách strómy rohovky s minimom expozície okolitých okulárnych štruktúr. Ku prejavom účinku pôsobenia UV-žiarenia dochádza len vtedy, ak dôjde k jeho absorpcii, a preto musí byť zabezpečené, aby sa maximum tohoto žiarenia absorbovalo v stróme rohovky. K uskutočneniu tohoto dochádza výberom vhodnej vlnovej dĺžky UV-žiarenia (370nm), ktorá korešponduje s absorpčným maximum riboflavínu. Riboflavín má 3 absorpčné maximá pre UV-A žiarenie, avšak len vlnová dĺžka 370nm je vhodná pre crosslinking kolagénu, pretože vlnová dĺžka

pod 300nm môže spôsobiť poškodenie DNA a vlnová dĺžka 450nm by mohla viesť ku poškodeniu sietnice v modrom spektre. Riboflavín má v procese crosslinkingu úlohu fotosenzitizátora – fotomediátora, pomocou ktorého dochádza ku tvorbe voľných kyslíkových radikálov vedúcich ku novým chemickým väzbám medzi kolagénovými vláknami.

Pôsobením ultrafialového žiarenia na riboflavín dochádza ku vzniku voľných kyslíkových radikálov, ktoré môžu pôsobiť cytotoxicky na keratocyty a endotel rohovky. Štúdie zamerané na sledovanie tohoto cytotoxického efektu procedúry sledoval Wollensak a spol.^{40,42,43} Na králičích rohovkách bola 24 hodín po aplikácii riboflavínu a UVA žiarenia pozorovaná apoptóza keratocytov do hĺbky 300 μ m. Konfokálna mikroskopia talianskych autorov potvrdila sledovania Wollensaka a spol., ktorá vizualizovala apoptotické keratocyty v rozsahu 270-350 μ m, a tiež potvrdila ich repopuláciu v rozsahu celej strómy rohovky po 6 mesiacoch od crosslinkingu.^{5,18} V týchto pokusoch, ktoré rešpektovali parametre koncentrácie riboflavínu a dávky UV-žiarenia klinicky aplikované, neboli detekované známky poškodenia endotelu rohovky.³²

2 Cieľ práce

Zhodnotenie efektivity terapie pomocou CXL-metódy u pacientov s progresívnym keratokónom.

Retrospektívne vyhodnotenie parametrov s výpovednou hodnotou týkajúcich sa vlastností rohovky a funkcie oka s minimálnou pozorovacou dobou 1 rok po aplikácii CXL a ich komparácia s hodnotami pred liečbou.

Sledované parametre:

- keratometrické hodnoty v 3mm zóne odčítané z topografického záznamu
- keratometrické hodnoty na apexe keratokónu
- astigmatizmus
- vízus

Sledovanie výskytu možných nežiadúcich účinkov CXL terapie.

3 Pacienti a metodika

3.1 Pacienti

Cross-linking kolagénu rohovky u pacientov s ektatickými ochoreniami rohovky sa na očnej klinike univerzitetnej nemocnice v Drážďanoch vykonáva od roku 1998. Začiatky týchto klinických štúdií naväzujú na roky experimentálnych in vitro zvieracích a humánnych a in vivo zvieracích skúseností, ktoré potvrdili efektivitu tejto metódy a absenciu dlhodobých nežiadúcich účinkov. Napriek tomu, bola aplikácia tejto metódy v prvých 3-och - 4-och rokoch len sporadická, a až v roku 2002 bolo za jeden rok vykonaných už 18 ošetrení a od tohoto roku počet výkonov za rok narastá, s maximálnym počtom v roku 2006, kedy bolo na tejto klinike vykonaných 169 procedúr. Tento fakt je dôležitým pre interpretáciu validity štatistických výsledkov štúdie z dlhodobého pohľadu.

Do tohoto roku bolo na tunajšej klinike ošetrených 574 očí, do konečnej štatistickej analýzy boli zahrnutí pacienti s minimálnou pozorovacou dobou 6 mesiacov od výkonu, túto podmienku splnilo 241 očí stotridsiatich pacientov. Ide o longitudinálnu retrospektívnu štúdiu, s konzekutívnou rekrutáciou pacientov s progredujúcim keratokómom starších ako 18 rokov. Štúdia bola preverená a odsúhlasená etickou komisiou tunajšej inštitúcie (pod registračným číslom EK 310 499), každý pacient obdržal pred výkonom písomnú informáciu o charaktere jeho ochorenia a podrobný popis navrhovaného liečebného postupu, bol informovaný o študijnom charaktere tohoto druhu liečby, o jej možných rizikách a svoju informovanosť potvrdil svojim podpisom.

Pri vstupnom vyšetrení bola sledovaná refrakcia pacientov, zraková ostrosť na Snellenových optotypoch pri štatistickom spracovaní pretransformovaná do LogMAR formy, topografia rohovky, na ktorých sa sledovala maximálna keratometria v 3mm zóne, na vrchole keratokónu a astigmatizmus. Každý pacient bol vyšetrený biomikroskopicky, ako predný tak aj zadný segment. Ku CXL procedúre boli indikovaní len tí pacienti, u ktorých sa potvrdili známky progresie ektázie zaznamenané v období posledného roka. Za relevantné známky progresie boli považované: zvýšenie keratometrických hodnôt v topografii rohovky, významné kvalitatívne zmeny v topografickom obraze, zmeny v refrakcii, zhoršenie zrakovej ostrosti. Ak vyšetrujeme pacienta po prvý-krát a nemáme k dispozícii nálezy jeho

predošlých vyšetrení, starostlivá anamnéza môže významne pomôcť pri indikácii procedúry: údaje o zhoršení videnia aj napriek novej okuliarovej alebo šošovkovej korekcii, nástup alebo zhoršenie diplopie, zníženie tolerancie pri nosení kontaktnej šošovky a pod. v poslednom období mali dôležitú výpovednú hodnotu pri rozhodovaní sa ku procedúre.

3.2 Metodika

Cross-linking procedúra sa vykonáva na našej klinike v rámci ambulantných operačných výkonov. Ako premedikácia je pacientovi podaná analgéza a trankvilizér v tabletkovej forme (Tblt. Diazepam 5mg) podobne ako je tomu pacientov pred refrakčným laserovým výkonom. Pred samotným výkonom ja pacientovi aplikovaná lokálna topická anestéza (Proparacain-POS® 0,5%). Samotná procedúra je vykonaná v settingu refrakčného excimer-laserového operačného sálu, pred aplikáciou roztoku 0,1% riboflavínu vo forme kvapiek sa odstráni epitel rohovky v priemere asi 8mm, aby sa zabezpečila dostatočná penetrácia roztoku riboflavínu do strômy rohovky. Následne je pacientovi aplikovaný 0,1% riboflavín (magistraliter príprava: **izoosmolárny roztok riboflavínu:** riboflavínfosfát-nátrium 0,127g, Methylhydropropylcelulóza 1,5g, izotonický roztok NaCl 0,9% do 100g; **hyposmolárny roztok riboflavínu:** riboflavínfosfát-nátrium 0,127g, NaCl 0,7g, H₂O do 100g; firma Peschke dodáva riboflavín vyrábaný v „Kronen-Apotheke“ Kiel: izoosmolárny roztok: riboflavín 0,1% 3ml, Dextran 500 20%; hyposmolárny roztok: riboflavín 0,1% 0,5ml) vo forme kvapiek; v závislosti od hrúbky rohovky: nad 400µm – izoosmolárny roztok, pod 400µm - hyposmolárny roztok, každé 3 minúty po dobu 30 minút, pokiaľ nie je tkanivo rohovky v celej jeho hrúbke dostatočne nasýtené roztokom a pri biomikroskopii nie je zrejmalá fluorescencia roztoku v prednej komore.³² V prípade potvrdenia tohoto fenoménu je možné započat' s ožiaréním rohovky UV-A žiarením. Toto žiarenie má vlnovú dĺžku 370nm±5nm a jeho výkon je 3mW/cm² po dobu 30 minút, čo zodpovedá celkovej dávke 3,4 J, resp. totálnej radiačnej expozícii rohovky 5,4 J/cm². Intenzita žiarenia sa sleduje a kalibrácia prístroja sa vykonáva pred jeho každým použitím pomocou merača LaserMate-Q UVA meter (Laser 2000). Rohovka je ožiarená v priemere asi 8mm. Od r. 1998 do r. 2006 sa ku UV ožiareniu používal prototyp prístroja skonštruovaný Prof. Spörlom a Prof. Seilerom, ktorým boli

vykonané aj všetky experimenty v tejto oblasti a od r. 2007 sa používa CE – certifikovaný CXL prístroj firmy Peschke GmbH.

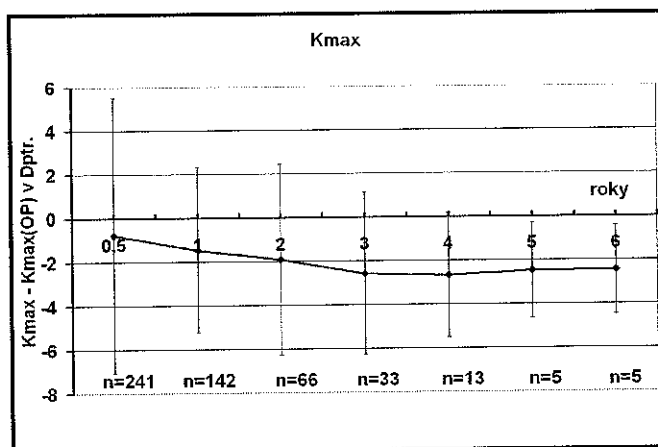
Po ukončení ožiarenia sa rohovka ošetrí antibiotickou masťou (Floxal® Augensalbe, fi. Mann) a masťou podporujúcou epitelizáciu rohovky (Vita-POS® Augensalbe, fi. Ursapharm), tieto sa aplikujú v 2-hodinových intervaloch a pacient sa sleduje denne do ukončenia epitelizácie rohovky. Po epitelizácii sa redukuje antibiotická masť na 1x denne po dobu jedného týždňa, Vit. A 3x po dobu jedného týždňa a kvapky Dexamethason (DexaEDO® Augentropfen, fi Mann) 3x denne po dobu troch týždňov. Nasledujúca kontrola je po 3 mesiacoch od výkonu, kde sa pacient vyšetrí biomikroskopicky; po 6 mesiacoch a po jednom roku od výkonu a ďalej vždy 1-krát do roka sa pri každej kontrole pacient podrobí vyšetreniu ako pri vstupnom vyšetrení, t.j. biomikroskopické vyšetrenie predného a zadného segmentu, refrakcia, vízus a topografia rohovky so všetkými horeuvedenými parametrami.

Na kvantifikáciu efektu cross-linkingu sa zaznamenávali horeuvedené parametre pri každej kontrole pacienta, a tieto sa porovnávali s hodnotou parametrov v čase aplikácie cross-linkingu. Na štatistické vyhodnotenie bol použitý SPSS software (version 12.5, SPSS, Inc.), pri hodnotení opakovaných meraní v súbore ako takom sa použila ANOVA metóda, pri analýze skupiny očí s opacifikáciou rohovky po cross-linkingu, ktorá sa rozoberá v kapitole pojednávajúcej o komplikáciách sa použila metóda T-test.

4 Výsledky

Priemerný vek sledovanej kohorty bol $30,04 \pm 10,46$ rokov. Priemerná pozorovacia doba bola $26,7 \pm 16,2$ mesiacov. Priemerné keratometrické hodnoty pred CXL boli: $K_{\max} = 53,7 \pm 7,5$ Dptr., $K_{\text{apex}} = 62,6 \pm 12,7$ Dptr. Hodnota priemerného astigmatizmu bola $6,5 \pm 4,4$ Dptr., priemerný najlepšie korigovaný vízus bol $0,39 \pm 0,31$ logMAR.

Výsledky sledovaných parametrov retrospektívnej štúdie sú zobrazené v nasledujúcich grafoch.

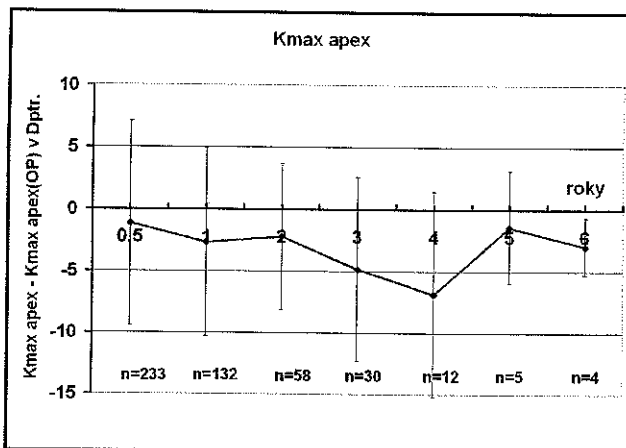


Graf 1: Zmena keratometrických hodnôt K_{\max} v čase ku dňu CXL - (0)

Tento graf (graf 1) znázorňuje zmenu maximálnych keratometrických hodnôt odčítaných v 3mm zóne topografického záznamu v porovnaní ku dňu výkonu – čas 0. V prvom roku po CXL dochádza ku štatisticky významnému poklesu priemernej K_{\max} hodnoty o 1,46 Dptr. ($P < 0,01$) u 56% očí, pričom 30% očí zostáva stabilných (v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr.), v druhom roku po CXL je zaznamenaný štatisticky významný pokles priemernej K_{\max} hodnoty o 1,91 Dptr. ($P < 0,01$) u 54% očí, 35% očí vykazuje výkyv K_{\max} hodnoty v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr.

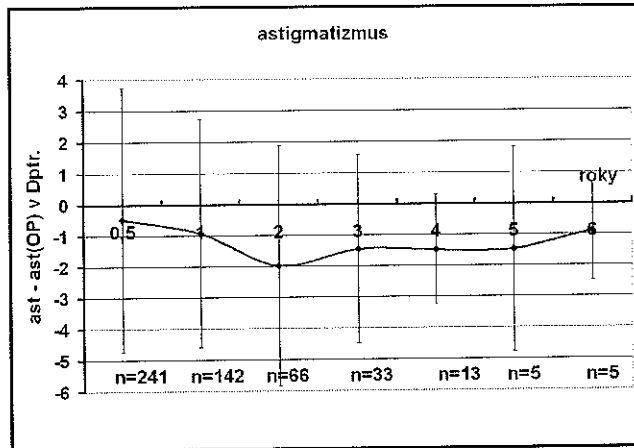
Tri roky po procedúre bol zistený štatisticky významný pokles priemernej K_{\max} hodnoty o 2,57 Dptr. u 58% očí ($P < 0,01$) a v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr. bolo 9% očí. V ďalších rokoch je z grafu zrejme taktiež stabilizácia procesu, čo sa však týka validity štatistickej interpretácie, musí byť zohľadnený malý počet očí kohorty v týchto

rokoch. Priemerná hodnota poklesu K_{max} vo všetkých podskupinách spolu za všetky roky v porovnaní s hodnotou pred CXL je 2,41 Dptr.



Graf 2: Zmena keratometrických hodnôt na vrchole keratokónu

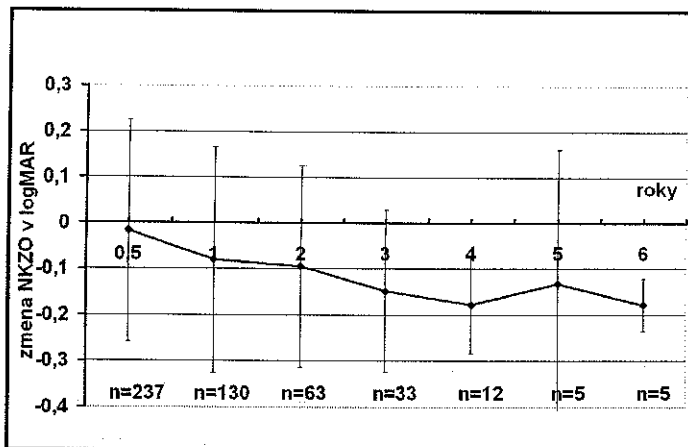
Pri meraní priemerných K hodnôt v oblasti apexu keratokónu už v prvom roku dochádza ku štatisticky významnému poklesu o 2,68 Dptr. u 62% očí ($P < 0,01$), u 17% zostáva tento parameter stabilný v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr. Dva roky po CXL je priemerná $K_{max\ apex}$ hodnota o 2,21 Dptr. v porovnaní s predoperačnou hodnotou štatisticky významne nižšia u 60% očí ($P < 0,01$), 19 % očí zostalo stabilných v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr. Pri vyhodnotení pacientov 3 roky po CXL, je pokles $K_{max\ apex}$ hodnoty o 4,84 Dptr. štatisticky významný u 78% očí, dve percentá očí zostávajú v rozmedzí $\pm 0,5$ Dptr. Priemerný pokles keratometrickej hodnoty v oblasti apexu pre celý súbor je o 3,65 Dptr. v porovnaní s predoperačnými hodnotami. (graf 2)



Graf 3: Vývoj zmeny astigmatizmu po CXL

Pri sledovaní astigmatizmu bol zaznamenaný v prvom roku po CXL štatisticky signifikantný pokles jeho priemernej hodnoty o 0,93 Dptr. u 50% očí ($P < 0,01$) a u 36% očí zostal tento parameter stabilný v rozmedzí $\pm 0,50$ Dptr. Dva roky po terapii je u 43% očí priemerný astigmatizmus nižší o 1,20 Dptr ($P < 0,01$) a u 42% očí zostáva v rozmedzí $\pm 0,50$ Dptr.

Po troch rokoch je astigmatizmus u 54% očí o 1,45 Dptr. nižší než tomu bolo v čase pred CXL ($P < 0,01$) a 14% očí preukázala v tomto časovom intervale po výkone stabilitu v rozmedzí $\pm 0,50$ Dptr. Hodnota astigmatizmu v celom súbore poklesla v priemere o 1,30 Dptr. (graf 3)



Graf 4: Zmena NKZO po CXL

Pozitívne výsledky boli zaznamenané aj v zrakovej ostrosti pacientov po cross-linkingu. Jeden rok po aplikácii sa významne aspoň o jeden riadok zlepšila najlepšie korigovaná zraková ostrosť u 53% očí a 20% očí si zachovalo NKZO ako mali pred výkonom. Po dvoch rokoch bolo zlepšenie NKZO aspoň o jeden riadok štatisticky významné u 57%

očí, pričom 24% očí zostalo na rovnakej úrovni ako tomu bolo pred CXL a tretí rok to bolo 58% očí, u ktorých bola zaznamenaná štatisticky významná zlepšenie NKZO aspoň o jeden riadok Snellenových optotypov a 29% očí zostalo na predoperačnej hodnote NKZO.

Z horeuvedených výsledkov a ich grafického znázornenia je zrejmé, že nie všetci pacienti profitujú z aplikácie riboflavínu a UV-A žiarenia na rohovku pri progresujúcom keratokóne. Do tejto skupiny „neúspešných pacientov“ boli zaradení pacienti u ktorých došlo ku zvýšeniu keratometrických hodnôt, výskytu stromálnych opacít rohovky alebo ku zhoršeniu NKZO po CXL. V snahe nájsť určitú závislosť, konkrétnu premennú, ktorá by priamo rozhodovala, resp. dávala bližšiu informáciu o prediktabiliti úspešnosti alebo neúspešnosti liečby, sa dali do komparácie jednotlivé, už horeuvedené premenné a skúmal sa ich výskyt v skupine „neúspešných pacientov“.

Pre homogenitu a štatistickú validitu výsledkov bola vykonaná táto komparácia na časti súboru s najväčším počtom očí - po jednom roku. V tomto časovom intervale po CXL bola preukázaná stabilita nálezu, či už pozitívneho alebo negatívneho, u všetkých očí súboru. Celkový počet očí tejto skupiny bol 142, z čoho bolo bez pozitívneho efektu na liečbu 27 očí, t.j. 19%. Premenné: K-hodnoty v 3mm zóne, K-hodnoty na apexe keratokónu, astigmatizmus, vek pacienta a hrúbka rohovky sa sledovali a porovnávala sa signifikantnosť ich výskytu v skupine s pozitívnym a negatívnym efektom liečby. Žiadna z týchto premenných pri štatistickom vyhodnotení nepreukázala signifikantnosť vplyvu na pozitívny, resp. negatívny efekt liečby ($P=0,55$). Jediná premenná, a to hrúbka rohovky, hoci takisto ako ostatné premenné bez štatistickej signifikantnosti, pri hodnote $P=0,139$, mala tendenciu negatívne ovplyvniť efekt cross-linkingu, a vzhľadom k tomu, že pri osobnom spracovávaní údajov ku jednotlivým pacientom súboru, bol nápadný výlučný výskyt nízkej hrúbky rohovky ($< 420\mu\text{m}$) u pacientov s negatívnym výsledkom, konkrétne stromálnymi opacitami (haze), sa podrobila analýze aj táto malá podskupina očí. Pri analýze výsledkov a ich závislosti od jednotlivých premenných v podskupine pacientov bez pozitívneho efektu na liečbu sa ukazuje jednoznačná kauzalita výskytu stromálnych opacít rohovky po CXL. U pacientov, u ktorých došlo ku vzniku perzistujúcich opacít rohovky bola preukázaná pri vstupnom vyšetrení nižšia hrúbka rohovky, vyššie keratometrické hodnoty a vyšší astigmatizmus. Tieto parametre boli aj štatisticky signifikantné.

5 Diskusia

Keratokónus je multifaktoriálne, chronické, nezápalové ochorenie, ktorého presná etiológia nebola dodnes jednoznačne objasnená. Toto ochorenie postihuje centrálnu časť rohovky, ktorá sa postupne stenčuje, čo vedie k jej ektatickým zmenám. Histopatologické štúdiá predpokladajú primárne zmeny na úrovni ektodermálnych vrstiev rohovky, ktoré až sekundárne vedú ku zmenám na úrovni mezodermu-strómy rohovky.³⁴ Iné štúdiá potvrdzujú podobnosť histologického nálezu keratokónu s nálezom pri atopii, ktorá často koinciduje s nálezom keratokónusu, a tiež postihuje tkanivo ektodermálneho pôvodu.²⁶ Esenciálnymi boli pozorovania Sawaguchiho, ktorý potvrdil zvýšené hladiny lyzozomálnych enzýmov v bazálnej vrstve epitelu keratokónickej rohovky v porovnaní s normálnymi rohovkami, a tiež sledoval znížené hladiny inhibitora α_1 proteinázy v epitele rohoviek s keratokónom, čo by teoreticky mohlo viesť ku degradácii pod epitelom nachádzajúceho sa tkaniva strómy rohovky a následne ku patologickým zmenám typickým pre keratokónus.^{27,28} Tieto zmeny na úrovni molekulárnej, biochemickej a histologickej sú následne bázou pre vznik zmien na úrovni biomechanickej, čo možno potvrdiť zvýšenou rozťažiteľnosťou keratokónických rohoviek, ktorá je dôležitým parametrom v patogenéze tohoto degeneratívneho ochorenia.⁹ Rohovka s keratokónom má vyššiu elasticitu a jej rigidita je nižšia v porovnaní s normálnymi rohovkami. Zmeny v štruktúre a organizácii kolagénu rohovky a intercelulárnej matrix, ako aj apoptóza a nekroza keratocytov, takmer výlučne koncentrované v centrálnej časti predných vrstiev strómy rohovky sú fundamentom štruktúrálného oslabenia rohovkového tkaniva pri keratokóne.^{13,15,24,37} Fotopolymerizáciou dochádza ku zvýšeniu rigidity kolagénu rohovky a zvýšeniu rezistencie voči keratektatickému preformovaniu sa rohovky.⁴⁴ Efekt pôsobenia kombinácie riboflavínu a UV-žiarenia na zmenu štruktúry kolagénových vlákien rohovky, na zmenu aktivity lytických účinkov enzýmov epitelu rohovky, na apoptózu keratocytov v predných vrstvách strómy rohovky bolo možné potvrdiť experimentálne in vitro a in vivo na zvieracom, in vitro aj na ľudskom tkanive.⁴²

Prvé klinické skúsenosti s touto metódou použitou u pacientov s progredujúcim keratokónom boli publikované autormi z drážďanskej očnej kliniky. Išlo o prospektívnu nerandomizovanú klinickú pilotnú štúdiu, do ktorej bolo zahrnutých 23 očí 22 pacientov. Cross-linking bol vykonaný horevedným spôsobom. Maximálna

doba sledovania jednotlivých pacientov po cross-linkingu bola 4 roky. U všetkých pacientov došlo ku zastaveniu progresie keratokónu, u 70% pacientov bola topograficky preukázaná regresia, s redukciou K_{max} hodnôt. Nebola zaznamenaná opacifikácia rohovky alebo šošovky, a taktiež neboli zaznamenané patologické zmeny endotelu rohovky ani vnútroočného tlaku. U 65% pacientov došlo ku zlepšeniu korigovanej zrakovej ostrosti.⁴¹ Po pozitívnych výsledkoch tejto pilotnej štúdie, bez zaznamenania žiadnych výrazných vedľajších účinkov liečby došlo ku zvýšeniu počtu pacientov indikovaných ku tomuto zákroku. Počet pacientov, ktorí boli podrobení tejto liečbe sa do dnešného dňa niekoľkokrát zvýšil a cieľom tejto štúdie bolo práve vyhodnotenie výsledkov doteraz najväčšieho súboru pacientov s keratokónom liečených touto procedúrou vôbec, sledovanie efektivity CXL liečby vyhodnotením topografických záznamov, určením NKZO, sledovaním výskytu nežiadúcich účinkov, resp. komplikácií liečby.

Po tejto práci publikovanej v roku 2003, nasledovala až v roku 2006 publikácia talianskych autorov s oveľa nižším počtom sledovaných očí, a to desať, ktoré mali v podstate korelujúce výsledky s výsledkami draždanskej skupiny: u všetkých očí došlo ku štatisticky signifikantnej redukcii keratometrických hodnôt, zlepšeniu NKZO a nedošlo ku štatisticky významným zmenám v počte endotelových buniek a ku zmene vnútroočného tlaku. Navyše oproti prvej publikovanej štúdii v tejto oblasti, títo autori sledovali aj aberometrický obraz povrchu rohovky a zistili, že po CXL dochádza ku zlepšeniu morfolologickej symetrizácie rohovky a signifikantnej redukcii komatických aberácií.⁵

Na pracovisku draždanskej očnej kliniky univerzitetnej nemocnice bolo do dnešného dňa ošetrených CXL metódou 574 očí, na základe klinických skúseností, pri ktorých sa pozorovala stabilizácia nálezu na rohovke najskôr po šiestich mesiacoch, boli do štatistickej analýzy zaradení pacienti s minimálnou pozorovacou dobou od šiestich mesiacov. Veľkosť kohorty študovanej skupiny bola 241 očí u stotridsiatich pacientov.

Vzhľadom na vysoké počty očí ktoré boli k dispozícii ku analýze po jednom, dvoch a troch rokoch (142, 66 a 33 očí), z ktorých sa predpokladala aj štatistická validita výsledkov, tieto sú komentované aj v texte štúdie, výsledky CXL na úplne prvých očiach po štyroch, piatich a šiestich (13, 5 a 5 očí) rokoch boli popísané v prvej pilotnej štúdii publikovanej Wollensakom, popísanej už vyššie.

Mnohí pacienti profitovali z tejto terapie aj v zmysle zlepšenia zrakovej ostrosti, je však nutné poznamenať, že tento parameter nie je primárnym cieľom tejto terapeutickú metódy a na to sú upozorňovaní aj pacienti pred podstúpením tohoto zákroku. Cieľom výkonu je na základe už popísaného fotochemického procesu stabilizácia procesu, „zmrazenie“, tzv. „freezing“ rohovky v takej forme akej pred CXL je a úspech procedúry je klasifikovaný ak nedochádza k ďalšej progresii keratokónu, a to že dochádza u časti pacientov aj ku zlepšeniu NKZO, možno klasifikovať ako „pozitívny“ vedľajší účinok liečby. V priebehu troch rokov po CXL dochádza ku významnému zlepšeniu NKZO, resp. pretrvávajú jej stabilné hodnoty u 73-87% očí.

Na druhej strane, bola aj časť pacientov, u ktorých boli keratometrické hodnoty po CXL nezmenené, ale zraková ostrosť u nich poklesla vzhľadom ku hodnotám pred výkonom, a ďalšia časť pacientov u ktorých došlo aj ku progresii keratometrických hodnôt, teda pacienti, kde tento spôsob liečby nedosiahol žiadny efekt. V tejto skupine „neúspešných“ pacientov sa hľadala variabilná veličina, ktorá by bola, v porovnaní s „úspešnou“ skupinou, možným determinantom rozhodujúcim o úspešnosti, alebo neúspešnosti liečby CXL, resp. potenciálnym indikátorom určujúcim aspoň tendenciu ku pozitívnemu efektu, resp. jeho neúspechu. Pri sledovaní istého pravidelného výskytu jednotlivých premenných v tejto skupine, ako: K_{max} hodnota, K hodnota na vrchole keratokónu, astigmatizmus, vek pacienta a hrúbka rohovky, ani pri jednej z týchto veličín nebola zaznamenaná štatistická významnosť ich výskytu. Jediný variabilný parameter, a to hrúbka rohovky, signalizovala s hodnotou $P= 0,139$ možnú tendenciu ku pravidelnejšiemu výskytu. Tento štatistický údaj spolu s nálezom tenkých rohoviek (pod $420 \mu m$) výlučne v skupine „neúspešných“ očí podnietil ešte ku dodatočnej analýze tejto podskupiny, ktorá odhalila významnú závislosť výskytu takého významného v tejto skupine ako je zvýšená tendencia ku vzniku trvalých rohovkových stromálnych opacít – haze. Tenké rohovky, rohovky s vyššími keratometrickými hodnotami a vyšším astigmatizmom pred CXL terapiou preukázali významne vyššiu pohotovosť ku vzniku trvalého haze po procedúre. Pri porovnaní s faktami publikovanými v odbornej literatúre, je jediná experimentálne podložená zmienka, korelujúca s nálezom v našej štúdii v práci talianskych autorov popisujúca ultraštruktúrálnu analýzu sledovaných Heidelberg retinálnym tomografom II, ktorým sa porovnávali nálezy in vivo v ľudských rohovkách po CXL konfokálnou mikroskopiou. Po 2-3-och mesiacoch od

CXL pozorovali títo autori u očí s mikroskopicky detekovateľným haze v hĺbke 170 až 180µm hyperreflektujúce oválne a elongované jadrá keratocytov so zvýšeným zahustením extracelulárnej matrix. Tento konfokálny mikroskopický nález bol častejší a intenzívnejší u pacientov s pokročilým keratokónom s Vogtovými striami. Tento nález sa nedetekoval u pacientov v skorých štádiách keratokónu.¹⁹

V ďalšej práci tých istých autorov sa jednoznačne potvrdzuje, že predoperačný konfokálny mikroskopický nález hyperaktivovaných, hyperdenzných jadier keratocytov v predných vrstvách strómy rohovky, retikulárny priebeh tmavých mikrostrií v stróme rohovky a biomikroskopický nález Vogtových línií sú pomerne spoľahlivým prediktabilným rizikovým faktorom pre vznik trvalého haze strómy rohovky po CXL.²⁰ Vlastnosti premenných u pacientov s haze v tejto práci analyzovanej podskupiny ako : tenké rohovky, vysoké keratometrické hodnoty, vysoký astigmatizmus charakterizujúce pokročilý keratokónus, zapadajú do mikroskopického nálezu popisovaného Mazzottom a spol. a má veľký význam pri konzultácii pacienta a možnej predpovedi výsledku CXL procedúry, resp. pri rozhodovaní sa, či vôbec pristúpiť k tejto modalite terapie pri morfológicky pokročilom náleze.

Technika perforujúcej keratoplastiky bola dlhé roky štandardom definitívnej liečby pokročilého keratokónu. Napriek tomu, že mnohé štúdie preukázali veľmi dobre dlhodobé výsledky po perforujúcej keratoplastike v zmysle dobrej zrakovkej ostrosti^{35,36}, je jednoznačným faktom, že dlhodobá optická rehabilitácia po tomto výkone, vysoký astigmatizmus, so stehmi súvisiace problémy a možnosť rejekčnej reakcie aj po rokoch od operácie sú nevýhodou tejto operačnej metódy. Pri analýze veľkých súborov pacientov po perforujúcej keratoplastike došlo ku rejekčnej reakcii u 20% pacientov, z čoho 85% boli endotelové rejekčné reakcie, z ktorých 2,5% viedlo ku zlyhaniu transplantátu.^{4,39} Práve z týchto dôvodov je lamelárna technika keratoplastiky pri keratokóne ako rovnocenná alternatíva liečby veľkým prínosom, vzhľadom k tomu, že eliminuje možnosť endotelovej rejekčnej reakcie a minimalizuje redukciu počtu endotelových buniek príjemcu. Technika tejto metódy je však technicky a časovo náročná a v priebehu learning curve operátora spojená s množstvom intra- a perioperačných problémov, no napriek týmto úskaliam dochádza ku etablovaniu sa lamelárnej techniky keratoplastiky pri keratokóne v oftalmológii, pretože z nej môžu benefitovať predovšetkým pacienti s vysokým rizikom vzniku rejekčnej reakcie, ako napr. pacienti s atopickým očným ochorením,

nevyhnutnosťou transplantácie veľkého rohovkového štepu, koexistujúcim herpetickým ochorením oka, atď.

Transplantácia rohovky je považovaná za najúspešnejšiu transplantáciu v humánnej medicíne vôbec.^{29,30,38} Kritériá úspešnosti transplantácie z hľadiska pacienta majú však iné parametre, pretože pacient od operácie očakáva zlepšenie kvality života cez zlepšenú zrakovú ostrosť, ktorá vykompenzuje a prevýši všetky negatívne zážitky a skúsenosti spojené s operáciou a pooperačnou starostlivosťou, nevynímajúc aj finančnú záťaž, ktorá bola s týmto spojená. Číry transplantát je totiž len predpokladom dobrej zrakovkej ostrosti, ale samotný nestačí, vzhľadom k tomu, že mnohokrát je rušivým faktorom pri takomto náleze vysoký pooperačný astigmatizmus, ktorý nie je možné kompenzovať okuliarmi a jeho korekcia kontaktnými šošovkami nie je u každého akceptovateľná, resp. praktizovateľná, čo je ale aj v prípade pozitívneho efektu spojené napr. s ďalšími finančnými nákladmi zo strany pacienta (honorár za vyšetrenie, vyhotovenie kontaktnej šošovky, transport na vyšetrenie, atď). A to nie sú len finančné náklady pacienta, ktoré limitujú kvalitu jeho života po transplantácii rohovky, ale aj psychická záťaž, napr. stály alebo intermitentný pocit cudzieho telieska v oku, strach z prenosného ochorenia z tkaniva transplantátu, strach z rejekčnej reakcie, atď.³ Práve všetkým týmto úskaliam transplantácie rohovky, vykonanej akoukoľvek technikou, je možné sa v prípade správnej indikácie cross-linkingu kolagénu rohovky pomocou riboflavínu a UVA-žiarenia u pacientov s keratokónom vyhnúť, pretože zlepšením biomechanických vlastností rohovky stabilizujeme stav tkaniva rohovky v stave, v ktorom umožňuje pacientovi mať s optimálnou korekciou užitočný vízus. Okrem klinických výhod prináša táto modalita aj mnoho ekonomických a psychosociálnych pozitív: cross-linking je možné praktizovať ako ambulantný výkon, ktorý je minimálne invazívny, ekonomicky únosný, s malou záťažou pre samotného pacienta. Narozdiel od transplantácie, ktorá je technicky náročná, finančne zaťažujúca, a ako hore už uvedené spojená s mnohými možnými intraoperačnými a postoperačnými komplikáciami, a napriek dobrým dlhodobým výsledkom mnohokrát spojená s krátkodobým alebo aj dlhodobým obmedzením pracovných a privátnych aktivít pacienta.

6 Záver

Môže jednoduchá „nechirurgická“, neinvazívna technika viesť ku zvýšeniu rezistencie rohovky voči ektázií pri keratokóne? Pôvodná hypotéza v 90-tych rokoch 20. storočia, prí úvodných experimentoch v tejto oblasti, bola postavená na potvrdení, resp. vyvrátení pravdivosti tvrdenia, že cross-linking kolagénu rohovky pomocou riboflavínu a UVA žiarenia vedie ku zvýšeniu tuhosti rohovky a zvýšeniu odolnosti voči lytickým enzymatickým procesom. Pravdivosť tejto hypotézy na základe mnohých in vitro a in vivo experimentov aj za in vivo podmienok na humánnom rohkovom tkanive, bez výskytu komplikácií, na zvieratách a aj in vitro experimentov na humánnom tkanive, citovaných vyššie v tejto práci bola potvrdená. Prvá pilotná štúdia s malým počtom očí, ktorej výsledky boli v roku 2003 publikované potvrdila pozitívny účinok tejto modality liečby resp. ireverzibilných nežiadúcich účinkov, čo bolo akýmsi „spúšťačím motorom“ k tomu, aby sa mohlo pokračovať v tejto štúdii nielen na očnej klinike drážďanskej univerzity, v ktorej sa medzičasom nachádza 574 očí ale aj na mnohých oftalmologických pracoviskách v Nemecku, v Európe a v súčasnosti započala aj FDA-štúdia na zavedenie tejto terapeutickéj metódy v USA. V tejto práci boli analyzované dlhodobé výsledky účinku CXL na doteraz najväčšom počte pacientov vôbec, ktoré boli medzičasom aj publikované.²⁵

Štatistický rozbor nášho súboru potvrdil predbežné výsledky drážďanských autorov z pilotnej štúdie, ktoré boli nezávisle od tohoto súboru potvrdené aj inými autormi prezentujúce účinnosť CXL pri stabilizácii progredujúceho keratokónu bez zaznamenania závažných nežiadúcich účinkov.⁵ Iní autori dokonca, v presvedčení o efekte tejto metódy a v snahe zlepšiť kvalitu videnia pacienta kombinujú CXL s inými refrakčnými terapeutickými postupmi, ako napríklad s limitovanou „topo-guided surface excimer ablation“ alebo s implantáciou intrakorneálnych prstencov Intacs.^{6,14} Pri kombinácii týchto procedúr je cieľom symetrizácia centra rohovky a zlepšenie naturálnej zrakovej ostrosti a zlepšenie možnosti aplikácie kontaktných šošoviek, a tým aj zlepšenie korigovaného vízu.

Úskalím pri štatistickom hodnotení nášho súboru by mohla byť absencia kontrolnej skupiny očí pacientov, pri ktorej by sa hodnotil nález keratokónu a jeho event. Progresia bez akejkoľvek intervencie. Vzhľadom na presvedčivé výsledky pilotnej štúdie etická komisia našej inštitúcie zamietla pokračovanie v štúdii za prítomnosti kontrolnej skupiny bez liečby.⁴¹ Tento názor sa zhoduje aj v neskôr publikovaných

prácach skupiny „Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus Study“, ktoré jednoznačne zaznamenávajú signifikantný pokles zrakovej ostrosti v priebehu ôsmich rokov, zvýšenie astigmatizmu a keratometrických hodnôt, opacifikáciu subepiteliálnej strómy a postupné stenčovanie rohovky pri keratokóne ponechanom jeho prirodzenému vývinu.^{2,8,21,33}

Túto podmienku pre štatistickú dokonalosť potvrdenia účinnosti metódy spĺňajú európske klinické štúdie započaté v roku 2006 na pracoviskách v Zürichu, Bruseli a Miláne, randomizovaná, placebom kontrolovaná, dvojito-slepá, multicentrická štúdia započatá v roku 2007 vo Freiburgu v Nemecku, austrálska randomizovaná kontrolovaná štúdia, ktorej 12-mesačné výsledky sú signifikantne priaznivé pre skupinu CXL liečených očí (Dr. C. Wittig, 3rd International CCL Congress in Zürich, December 2007), a tiež niekoľko klinických štúdií v rámci FDA-procedúry iniciovaných v roku 2008 pod vedením Dr. R.D. Stultinga z Emory University z Atlanty, na ktorých priebežné predbežné výsledky bude nevyhnutné určitý čas počkať.

7 Literatúra

1. Andreassen TT, Simonsen AH, Oxlund H. Biomechanical properties of keratoconus and normal corneas. *Exp Eye Res* 1980; 31: 435-441
2. Barr JT, Wilson BS, Gordon MO et al. Estimation of the incidence and factors predictive of corneal scarring in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study; the CLEK Study Group. *Cornea* 2005; 25: 16-25
3. Böhringer D, Schindler A, Reinhard T. Zufriedenheit nach perforierender Keratoplastik. Ergebnisse eines Fragebogenzensus. *Ophthalmologie* 2006; 103: 677-681
4. Brierty S, Izquierdo LJ, Mannis MJ. Penetrating keratoplasty for keratoconus. *Cornea* 2000; 19: 329-332
5. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C et al. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32: 837-845;
6. Chan CCK, Sharma M, Wachler BSB. *J Cataract refract Surg* 2007; 33: 75-80
7. Colin J, Velou S. Current surgical options for keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2003;29: 379-386
8. Davis LJ, Schechtman KB, Wilson BS et al. Longitudinal changes in visual acuity in keratoconus; the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 489-500
9. Edmund C. Assessment of an elastic model in the pathogenesis of keratoconus. *Acta Ophthalmol* 1987; 65:545-550
10. Eyre DR. Cross-linking in collagen and elastin. *Ann Rev Biochem* 1984; 53: 717-748
11. Graupner M et al. Interim results from prospective „Erlangen non-high-risk penetrating keratoplasty study“. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2000 Sept; 217(3): 167-170
12. Harner CH, McCarey BE, Rao PR, Chow AA. In vivo evaluation of biomaterials for synthetic epikeratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: S68
13. Kaldawy RM, Wagner J, Ching S. et al. Evidence of apoptotic cell death in keratoconus. *Cornea* 2002; 21: 206-209
14. Kanellopoulos AJ, Binder PS. Collagen cross-linking with sequential topography-guided PRK. A temporizing alternative for keratoconus to penetrating keratoplasty. *Cornea* 2007; 26: 891-895

15. Kenney MC, Nesburn AB, Burgeson RE et al. Abnormalities of the extracellular matrix in keratoconus corneas. *Cornea* 1997; 16: 345-351
16. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol* 1994; 28:293-322.
17. Mark HS. Cross-linking with radiation. *Encyclopedia of polymer science and engineering* 2nd Ed. ;Vol. 4, Pp. 418-449. Academic Press: London
18. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S et al. Conservative treatment of keratoconus by riboflavin-uv-a-induced cross-linking of corneal collagen: qualitative investigation. *Eur J Ophthalmol* 2006; 16: 530-535
19. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C. et al. Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UVA-induced cross-linking of corneal collagen. Ultrastructural analysis by Heidelberg retinal tomograph II in vivo confocal microscopy in humans. *Cornea* 2007; 26: 390-397
20. Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S. et al. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen crosslinking in keratoconus: in vivo confocal microscopical evaluation. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007; 35(6): 580-2
21. McMahon TT, Edrington T; Szczołka-Flynn L et al. Longitudinal changes in corneal curvature in keratoconus. *Cornea* 2006; 25: 295-306
22. Rabinowitz YS, Garbus JJ, Garbus C. et al. Contact lens selection for keratoconus using a computer-assisted videophotokeratoscope. *CLAO J* 1991;17:88-93
23. Rabinowitz YS. Keratoconus: update and new advances. *Surv Ophthalmol* 1998;42:297-319
24. Radner W, Zehetmayer M, Skorpik C et al. Altered organization of collagen in the apex of keratoconus corneas. *Ophthalmic Res* 1998; 30: 327-332
25. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoer E. et al. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: Long-term results. *J Cataract Refract Surg* 2008; 34: 796-801
26. Sabiston DW. The association of keratoconus, dermatitis, and asthma. *Trans Ophthalmol Soc NZ* 18: 66-72, 1966
27. Sawaguchi S et al. Lysosomal enzyme abnormalities in keratoconus. *Arch Ophthalmol* 107: 1507-1510, 1989
28. Sawaguchi S et al. Alpha-1 proteinase inhibitor levels in keratoconus. *Exp Eye Res* 50: 549-554, 1990

29. Seitz B, Langenbucher A, Naumann GOH. Die perforierende Keratoplastik. Eine 100-jährige Erfolgsgeschichte. *Ophthalmologie* 2005; 102: 1128-1139
30. Sharif KW, Casey TA. Penetrating keratoplasty for keratoconus: complications and long-term success. *Br J Ophthalmol* 1991; 75: 142-146
31. Smolin G. Dystrophies and degenerations. In: Smolin G, Thoft RA, eds. *The cornea scientific foundations and clinical practice*. Boston: Little, Brown, 1987: 448
32. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D et al. Safety of UVA-Riboflavin Cross-linking of the Cornea. *Cornea* 2007; 26: 385-389
33. Suzuki M, Amano S, Honda N et al. Longitudinal changes in corneal irregular astigmatism and visual acuity in eyes with keratoconus. *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51: 265-269
34. Teng CC. Electron microscope study of the pathology of keratoconus: part 1, *Am J Ophthalmol* 55: 18-47, 1963
35. The Australian Corneal Graft Registry. 1990-1992 Report. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1993 May; 21(2Suppl): 1-48
36. Troutman RC, lawless MA. Penetrating keratoplasty for keratoconus. *Cornea* 1987; 6: 298-305, The Australian Corneal Graft Registry. 1990 to 1992 report. *Aust N Z J Ophthalmol* 1993; 21(suppl): 1-48
37. Tuori AJ, Virtanen I, Aine E et al. The immunohistochemical composition of corneal basement membrane in keratoconus. *Curr Eye Res* 1997; 16: 792-801
38. Vail A, Gore SM, Bradley BA et al. Corneal graft survival and visual outcome. A multicenter Study. *Corneal Transplant Follow-up Study Collaborators. Ophthalmology* 1994; 101: 120-127
39. Watson SL, Ramsay A, Dart JKG et al. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Ophthalmology* 2004; 111: 1676-1682
40. Wollensak G, Spoerl E, Reber F et al. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res* 2003; 35: 324-328
41. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003; 135: 620-627
42. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M et al. Keratocyte apoptosis after collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea* 2004; 23: 43-49
43. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye* 2004; 18:718-722

44. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29: 1780-1785

8 Publikačná činnosť a prednášky

8.1 Pôvodné články a state v zborníkoch

Recenzované časopisy s IF:

1. Hoyer A, Raiskup-Wolf F, Spörl E, Pillunat LE. Kollagenvernetzung mit Riboflavin und UVA-Licht bei Keratokonus – Dresdner Ergebnisse. 2008 Jul 6. (Epub ahead of print), IF: 0,791
2. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. Collagen crosslinking with riboflavin and UVA-light in keratoconus : Long-term results. J Cataract Refract Surg 2008 ; 34 :796-801, IF: 2,497
3. Spörl E, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE. Biophysical principles of collagen cross-linking. Klin Monatsbl Augenheilkd. 2008 Feb;225(2):131-7, IF: 0,576
4. Spoerl E, Zubaty V, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE. Oestrogen-induced changes in biomechanics in the cornea as a possible reason for keratectasia. Br J Ophthalmol. 2007 Nov; 91(11):1547-50, IF: 2,689
5. Frucht-Pery J, Landau D, Raiskup F, Orucov F, Strassman E, Blumenthal EZ, Solomon A. Early transient visual acuity loss after LASIK due to steroid-induced elevation of intraocular pressure. Journal of Refractive Surgery 2007 Mar; 23(3):244-51, IF: 1,696
6. Frucht-Pery J, Raiskup F, Mechoulam H, Shapiro M, Eljarrat-Binstock E, Domb A. Iontophoretic treatment of experimental pseudomonas keratitis in rabbit eyes using gentamicin-loaded hydrogels. Cornea. 2006 Dec; 25(10):1182-6, IF: 1,708
7. Frucht-Pery J, Raiskup F, Ilisar M, Landau D, Orucov F, Solomon A. Conjunctival autografting combined with low-dose mitomycin C for prevention of primary pterygium recurrence. Am J Ophthalmol. 2006 Jun;141(6):1044-1050, IF: 2,468
8. Lifshitz T, Levy J, Raiskup F, Klemperer I, Frucht-Pery J. Two cases of pneumococcal keratitis following myopic LASIK. J Refract Surg. 2005 Sept-Oct; 21(5): 498-501, IF: 2,097
9. Eljarrat-Binstock E, Raiskup F, Frucht-Pery J, Domb AJ. Transcorneal and transscleral iontophoresis of dexamethasone phosphate using drug loaded hydrogel. J Control Release. 2005 Sep 2; 106(3): 386-390, IF: 3,696
10. Yahalom C, Mechoulam H, Raiskup F, Solomon A, Frucht-Pery J. Forty years of changing indications in penetrating keratoplasty in Israel. Cornea 2005 Apr, 24(3): 256-258, IF: 1,637

11. Raiskup F, Solomon A, Landau D, Ilisar M., Frucht-Pery J. Mitomycin C for pterygium: long term evaluation. Br. J Ophthalmol. 2004 Nov; 88(11), 1425-1428, IF: 2,524
12. Solomon A, Kaiserman I, Raiskup F, Landau D, Frucht-Pery J. Long-term effects of mitomycin C in pterygium surgery on scleral thickness and the conjunctival epithelium. Ophthalmology 2004 Aug; 111(8): 1522-1527, IF: 4,031
13. Eljarrat-Binstock E., Raiskup F, Stepensky D, Domb AJ, Frucht-Pery J. Delivery of gentamicin to the rabbit eye by drug-loaded hydrogel iontophoresis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004 Aug; 45(8) : 2543-2548, IF: 3,528
14. Eljarrat-Binstock E, Raiskup F, Frucht-Pery J, Domb AJ. Hydrogel probe for iontophoresis drug delivery to the eye. J. Biomater Sci Polym Ed 2004; 15(4): 397-413, IF: 1,409
15. Zadok D, Raiskup F, Landau D, Frucht-Pery J. Long-term evaluation of hyperopic laser in situ keratomileusis. J Cataract Refract Surg Nov. 2003, 29 (11), 2181-2188, IF: 2,097
16. Solomon A, Chowers I, Raiskup F, Siganos CS, Frucht-Pery J. Inadvertent conjunctival trauma related to contact with drug container tips: a masquerade syndrome. Ophthalmology 2003, Apr, 110 (4): 796-800, IF: 4,621
17. Zadok D, Raiskup F, Landau D, Frucht-Pery J. Intraocular pressure after LASIK for hyperopia. Ophthalmology Sept. 2002, 109(9), 1659-1661, IF: 4,617

Recenzované časopisy bez IF:

1. Raiskup-Wolf F, Eljarrat-Binstock E, Reháč M, Domb A, Frucht-Pery J. Transcorneal and transscleral iontophoresis of the dexamethasone phosphate into the rabbit eye. Cesk Slov Oftalmol. 2007 Sep; 63(5):360-8
2. Reháč M, Fric E, Rehak J, Raiskup-Wolf F, Langova K. Functional examination of retinal vessels in patients with central retinal vein occlusion. Cesk Slov Oftalmol. 2007 Apr; 63(2):95-102
3. Raiskup-Wolf F, Eljarrat-Binstock E, Rehak M, Domb A, Frucht-Pery J. Delivery of gentamicin to the rabbit eye using hydrogel and iontophoresis. Cesk Slov Oftalmol. 2006 May; 62(3):175-182

8.2 Abstrakty v časopisoch

Recenzované časopisy s IF:

1. Raiskup-Wolf F. Langzeitiger Effekt der Verwendung von Mitomycin C bei Pterygium.Operation auf Lederhautdicke und Bindehautepithel. Klin Monatsbl Augenheilkd 2005, S4 (Tagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft, Leipzig), IF: 0,576
2. Raiskup-Wolf F. Crosslinking bei Keratokonus – 5-Jahres-Ergebnisse. Klin Monatsbl Augenheilkd 2006, S9 (Jahrestagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft in Kombination mit den Dresdner Glaukomtagen, Dresden), IF: 0,679
3. Kißner A, Raiskup-Wolf F., Pillunat LE. Crosslinking bei iatrogener Keratektasie nach LASIK. Klin Monatsbl Augenheilkd 2006, S9 (Jahrestagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft in Kombination mit den Dresdner Glaukomtagen, Dresden), IF: 0,598
4. Raiskup-Wolf, F. 7-jährige Erfahrung mit der Kollagenquervernetzung bei Keratokonus. Klin Monatsbl Augenheilkd 2007,S4 (Jahrestagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft, Chemnitz), IF: 0,527
5. Steppat MH, Raiskup-Wolf F., Spörl E, Hoyer A, Pillunat LE. Kollagenvernetzung bei marginaler pelluzidaler Hornhautdegeneration. Klin Monatsbl Augenheilkd 2007,S4 (Jahrestagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft, Chemnitz), IF: 0,534

8.3 Abstrakty v zbornikoch

1. Raiskup-Wolf, F., Reháč M, Frucht-Pery J. Transklerálna iontoforéza steroidov pomocou hydrogélových nosičov. Sborník abstrakt – 7. Vejdovského olomoucký vědecký den, 2006, s. 45 (ISBN 80-244-1300-0)
2. Raiskup-Wolf, F., Hoyer A, Spörl E. Cross-linking pri progredujúcom keratokóne – dlhodobé výsledky. Sborník abstrakt – Mezinárodní kongres České společnosti refrakční a kataraktové chirurgie, 2008, s. 20 (ISBN 978-80-254-1569-6)

8.4 Prednášky

1. Raiskup F, Solomon A, Landau D, Ilsar M, Frucht-Pery J. Mitomycin C for pterygium – long-term evaluation. Israel Society for Vision and Eye Research –Annual Meeting (14-15. 03. 2002, Neve Ilan, Izrael)
2. Solomon A, Kaiserman I, Raiskup F, Landau D, Frucht-Pery F. Long-term effects of mitomycin C in pterygium surgery on scleral thickness and the conjunctival epithelium. Israel Society for Vision and Eye Research –Annual Meeting (14-15. 03. 2002, Neve Ilan, Izrael)
3. Frucht-Pery J, Raiskup F, Mechoulam H, Domb A. Treatment of experimental pseudomonas keratitis in a rabbit eye with iontophoresis – hydrogel –delivery–probe containing gentamicin. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting (14-15. 03. 2002, Neve Ilan, Izrael)
4. Frucht-Pery J, Raiskup F, Mechoulam H, Domb A. Treatment of experimental pseudomonas keratitis in a rabbit eye with iontophoresis-hydrogel-delivery probe containing gentamicin. 3rd International Conference on Ocular Infections (9-13.06.2003, Salzburg, Rakúsko)
5. Raiskup F, Solomon A, Landau D, Shapira MY, Frucht-Pery J. Severe microbial keratitis in graft versus host disease. 3rd International Conference on Ocular Infections (9-13.06.2003, Salzburg, Rakúsko)
6. Raiskup F, Landau D, Solomon A, Shapira MY, Frucht-Pery J. Severe microbial keratitis in patients with graft-versus-host disease. 3rd International Conference on Ocular Infections (9-13.06.2003, Salzburg, Rakúsko)
7. Raiskup F, Zadok D, Frucht- Pery F. Regression of retreatment after myopic LASIK. 7th ESCRS Winter Refractive Surgery meeting (7-9.02.2003, Rím, Taliansko)
8. Frucht-Pery J, Landau D, Solomon A, Raiskup F, Ilsar M. Conjunctival autotransplantation versus intraoperative application of topical mitomycin C for pterygium surgery. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting, (13-14. 03.2003, Neve Ilan, Izrael)
9. Raiskup F, Kaiserman I, Zadok D, Frucht-Pery J. Regression of retreatment after myopic LASIK. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting, (13-14. 03.2003, Neve Ilan, Izrael)
10. Landau D, Solomon A, Raiskup F, Frucht-Pery J. Overnight bandage contact lenses following LASIK. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting, (13-14. 03.2003, Neve Ilan, Izrael)
11. Frucht-Pery J, Raiskup F, Binstock E, Domb A. Iontophoresis -induced penetration of steroids into the rabbit eye. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting, (13-14. 03.2003, Neve Ilan, Izrael)

12. Frucht-Pery J, Landau D, Raiskup F, Solomon A. Early transient post-LASIK visual acuity loss due to steroid induced glaucoma. XXIX. European Cornea Conference (20-22. 06.2003, Pinhao, Portugalsko)
13. Raiskup F, Kaiserman I, Zadok D, Frucht-Pery J. Regression after myopic LASIK enhancement treatment (Cena za "najlepšiu prednášku"). The Israel Ophthalmological Society Conference (16.11.2003, Tel Aviv, Izrael)
14. Frucht-Pery J, Landau D, Raiskup F, Solomon A: Early transient post-LASIK visual acuity loss due to steroid induced glaucoma. Israel Society for Vision and Eye Research, XXIV. Annual Meeting (18-19.03. 2004, Neve Ilan, Izrael)
15. Eljarrat-Binstock E, Raiskup F, Domb A, Frucht-Pery J. Transcorneal and transcleral iontophoresis of dexamethasone phosphate into the rabbit eye using drug-loaded hydrogel. Israel Society for Vision and Eye Research, XXIV. Annual Meeting (18-19.03. 2004, Neve Ilan, Izrael)
16. Domb A, Eljarrat-Binstock E, Raiskup F, Stepensky D, Frucht-Pery J. Delivery of gentamicin to the rabbit eye using drug-loaded hydrogel iontophoresis. Israel Society for Vision and Eye Research, XXIV. Annual Meeting (18-19.03. 2004, Neve Ilan, Izrael)
17. Raiskup F. Operative Eingriffe an der Augenoberfläche. Gemeinsame Fortbildungsveranstaltung der Augenärzte in Leipzig : Von der Augenoberfläche bis zur Makula (10.11.2004, Leipzig, Nemecko)
18. Raiskup F, Kaiserman I, Frucht-Pery J. Regresia po myopickom re-LASIKu. III. Mezinárodní kongres České společnosti refrakční a kataraktové chirurgie (14-15.05.2005, Praha)
19. Raiskup F, Frucht-Pery J, Eljarrat-Binstock E, Domb AJ. Delivery of gentamicin to the rabbit eye using drug-loaded hydrogel iontophoresis. XXXI. European Cornea Conference (24-26.06.2005, Clermont-Ferrand, Francúzsko)
20. Raiskup-Wolf F. Langzeiteffekt der Verwendung von Mitomycin C bei Pterygium-Operation auf Lederhautdicke und Bindehautepithel. Jahrestagung der SAG (Sächsische Augenärztliche Gesellschaft) (4-5.11.2005, Leipzig, Nemecko)
21. Raiskup-Wolf F, Reháč M, Frucht-Pery J. Transklerálna ionoforéza pomocou hydrogélových nosičov. 7. Vejdovského olomoucký vědecký den (25.03.2006, Olomouc)
22. Raiskup-Wolf F. Collagen crosslinking in keratoconus. XXXII. European Cornea Conference (23- 25. 06. 2006 Ghent, Belgicko)

23. Raiskup-Wolf F. Crosslinking bei Keratokonus – 5-Jahres-Ergebnisse. Jahrestagung der Sächsischen Augenärztlichen Gesellschaft in Kombination mit den Dresdner Glaukومتagen (8-10.12.2006, Dresden, Nemecko)
24. Spörl E, Raiskup-Wolf F. Estrogen-induced changes of biomechanics of the cornea as possible reason for keratectasia. II. International Congress of Corneal Cross Linking (8-9.12. 2006, Zürich, Švajčiarско)
25. Raiskup-Wolf F., Spörl E. Cross Linking procedure in recurrent Keratoconus. II. International Congress of Corneal Cross Linking (8-9.12. 2006, Zürich, Švajčiarско)
26. Raiskup-Wolf F. Klinische Ergebnisse der Vernetzungsbehandlung bei Keratokonus und Keratektasie nach LASIK (Dresdner Ergebnisse). 9. Hallesches Symposium (19-21. 01, 2007, Halle, Nemecko)
27. Raiskup-Wolf F. Neue Tendenzen zur Kollagen-Vernetzung. 9. Hallesches Symposium (19-21. 01, 2007, Halle, Nemecko)
28. Raiskup-Wolf F. Klinische Ergebnisse nach Keratokonus und iatrogener Keratektasie. 20. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen, Joint-Meeting DOC-ISRS/AAO (17-20.05. 2007, Nürnberg, Nemecko)
29. Raiskup-Wolf F. Crosslinking in progressive keratoconus. XIV. Afro-Asian Congress of Ophthalmology (21-24. 06. 2007, Marrakech, Maroko)
30. Raiskup-Wolf F. Crosslinking kolagenu pri progredujúcom keratokóne. 4. bilaterálne slovensko-české oftalmologické sympózióm s medzinárodnou účasťou (27-29.09.2007, Banská Bystrica)
31. Raiskup-Wolf F. Crosslinking pri progredujúcich keratektáziách. XVIII. Ústecký oftalmologický den (19.10.2007, Ústí nad Labem)
32. Raiskup-Wolf F. 7-jährige Erfahrung mit der Kollagenquervernetzung bei Keratokonus. Jahrestagung der Sächsischen-Augenärztlichen Gesellschaft (26-27.10. 2007 Chemnitz, Nemecko)
33. Steppat MH, Raiskup-Wolf F., Spörl E. Kollagenvernetzung bei marginaler pelluzidaler Hornhautdegeneration. Jahrestagung der Sächsischen-Augenärztlichen Gesellschaft (26-27.10. 2007 Chemnitz, Nemecko)

34. Raiskup-Wolf F. Crosslinking in Borderline-Cases. 3rd International Congress of Corneal Cross Linking (7-8.12.2007, Zürich, Švajčiarsko)
35. Raiskup-Wolf, F., Hoyer A, Spörl E. Cross-linking pri progredujúcom keratokóne – dlhodobé výsledky. Sborník abstrakt – Mezinárodní kongres České společnosti refrakční a kataraktové chirurgie (16-17.05.2008, Praha)
36. Raiskup-Wolf F. Klinische Ergebnisse nach Keratokonus und iatrogener Keratektasie. 21. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen, Joint-Meeting DOC-ISRS/AAO (12-15.06.2008, Nürnberg, Nemecko)
37. Raiskup-Wolf, F., Spörl E. Corneal cross-linking – complications. XXXIV. European Cornea Conference (20-22.06.2008, Teolo-Padua, Taliansko)

Prezentácie formou posteru:

1. Raiskup F., Solomon A, Kaiserman I, Landau D, Frucht- Pery J. Long-term effects of Mitomycin C in pterygium surgery on scleral thickness and the conjunctival epithelium. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (5-10.05.2002, Fort Lauderdale, Florida)
2. Raiskup F., Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Iontophoresis-induced penetration of steroids into the rabbit eye. Israel Society for Vision and Eye Research – Annual Meeting (13-14. 03. 2003, Neve Ilan, Izrael)
3. Raiskup F., Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Iontophoresis (Mini ION) for corticosteroid administration into the rabbit cornea. ARVO (4-9.05.2003, Fort Lauderdale, Florida)
4. Pe'er J, Raiskup F., Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Pharmacokinetics of gentamicin in the rabbit eye administered via iontophoresis. ARVO (4-9.05.2003, Fort Lauderdale, Florida)
5. Raiskup F., Eljarrat-Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Transcorneal and transcleral iontophoresis of Dexamethasone phosphate into the rabbit eye using drug-loaded hydrogel. 5th International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapeutics (11- 14. 05. 2004, Monte Carlo, Monaco)
6. Raiskup F., Eljarrat-Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Delivery of gentamicin to the rabbit eye using drug-loaded hydrogel iontophoresis. (11-14. 05. 2004, Monte Carlo, Monaco)
7. Raiskup F., Eljarrat-Binstock E, Domb A, Frucht-Pery J. Treatment of experimental pseudomonas keratitis in a rabbit eye with iontophoresis-hydrogel-delivery probe containing gentamicin. (11-14. 05. 2004, Monte Carlo, Monaco)

9 Súhrn

Prehľad indikácií ku perforujúcej keratoplastike v západnom svete za posledných 25 rokov ukazuje, že keratokónus je po pseudofakickej bulóznej keratopatii a retransplantácii treťou najčastejšou indikáciou. Pri retransplantáciach je keratokónus taktiež treťou najčastejšou diagnózou, pre ktorú bola pôvodná transplantácia vykonaná. Táto skutočnosť je nevyhnutne spojená s významným psychickým a ekonomickým zaťažením pacienta, čo negatívne ovplyvňuje kvalitu jeho života a spoločnosť je takisto týmto faktom predovšetkým materiálne zaťažená.

V doteraz publikovanej literatúre týkajúcej sa cross-linking terapie a jej účinkov na humánne rohovkové tkanivo sa analyzovali súbory s maximálnym počtom 23 očí v krátkej pozorovacej dobe, ktoré napriek pozitívnym výsledkom, bez zaznamenania nepriaznivých vedľajších účinkov, majú limitovanú štatistickú výpovednú hodnotu.

Naša práca podáva výsledky doteraz najväčšieho súboru vôbec, s najdlhšou pozorovacou dobou popísanou doposiaľ zaoberajúca sa touto metódou liečby keratokónu, čo zvyšuje štatistickú validitu výsledkov a je pozitívom pri hodnotení efektivity tejto liečby a a jej nežiadúcich účinkov.

Táto štúdia jednoznačne potvrdila efekt cross-linking terapie a jej dlhodobý pretrvávajúci účinok. Na topografickom zázname bolo možné detekovať štatisticky významnú regresiu K_{\max} hodnôt v 3 mm zóne, došlo ku poklesu K hodnôt na apexe keratokónu a významne sa redukoval aj astigmatizmus.

Analýzou zrakovej ostrosti pacientov, štúdia preukázala u vyše 70% pacientov stabilitu zrakovej ostrosti po tejto procedúre, z čoho u vyše 50% došlo dokonca ku jej zlepšeniu aspoň o jeden riadok.

Štúdia nám umožnila dokumentovať komplikácie, ktoré sa môžu vyskytnúť pri tomto druhu terapie keratokónu, ako napríklad nehojaci sa defekt epitelu rohovky, infekcia rohovky a ich liečbu, a tiež nežiadúce účinky liečby, ako výskyt dlhodobého pretrvávajúceho hazy strômy rohovky, výskyt ktorého v súvislosti s predoperačným nálezom a jeho následky v pooperačnom období sú diskutované a majú význam pri indikácii pacienta ku tejto liečbe a v predoperačnom poradenstve pacientovi.

10 Summary

Review of indications for penetrating keratoplasty over the past 25 years in the western world revealed keratoconus as the third most frequent corneal disease after pseudophakic bullous keratopathy and re-grafting indicated for this procedure. Even in re-grafted corneas this disease was the third most frequent reason for the first graft. This fact inevitable is leading to psychological problems and financial stress of patients. It influences the quality of their life and well-being negatively.

Despite good results of the analyzed cohorts published to date in the literature concerning corneal cross-linking, the maximal number of analyzed eyes was still only 23 in a short follow-up time. This of course limits the statistical validity.

Our work analyses a cohort with greatest number of eyes and the longest follow-up time published in the literature to date. It allows evaluating the effect of this procedure and its possible side effects.

The study confirmed longstanding effects of corneal cross-linking in keratoconus patients such as regression of K_{max} values, K values of the apex of keratoconus and astigmatism.

Seventy percent of the patients showed a stable visual acuity and 50% even gained at least one line more.

We recorded few complications of this procedure in early postoperative period such as persistent epithelial defect, corneal infection and also long-term side effect as stromal haze of the cornea and we analyzed possible preoperative variables influencing this condition.