

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**MODIFIKACE LÉČBY PROGREDUJÍCÍHO KERATOKONU ZESÍŤOVÁNÍM
KOLAGENU ROHOVKY POMOCÍ RIBOFLAVINU A UVA ZÁŘENÍ**

Martina Veselá

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program Oční lékařství

Hradec Králové

2015

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu oční lékařství na Oční klinice Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Martina Veselá, FEBO
Oční klinika Lexum, Antala Staška 80, 140 00, Praha 10

Školitel: Doc. MUDr. Frederik Raskup, Ph.D., FEBO
Oční klinika FNHK, Sokolská 581, Hradec Králové, 500 05

Oponenti: Doc. MUDr. Drahomíra Baráková, CSc.
Oční klinika Gemini, U Společenské zahrady 3, 140 00 Praha 4–Krč

Doc. MUDr. Jiří Pašta, CSc., FEBO
Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice Praha
U Vojenské nemocnice 1200, 169 02, Praha 6

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR
dne v od hod.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

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

OBSAH

Obsah	3
Souhrn	4
Summary	5
Úvod do problematiky	6
Cíle disertační práce	6
Materiál a metodika	7
Sledované parametry a statistická analýza dat	7
Soubor pacientů	8
Provedení CXL	8
Výsledky	9
Diskuse	13
Hojení epitelu, bolestivost	14
Korneální zkalení a jizvení	14
Počet endoteliálních buněk	16
Zraková ostrost	17
CCT, biomechanika, hydratace a objem rohovky	18
Elevační změny předního, zadního povrchu, K_{max} , „push-up“ efekt po CXL	20
Korelace topografických výsledků Keratograph/Pentacam	23
Objektivní potvrzení účinků CXL	24
Závěr	25
Použitá literatura	27
Přehled publikační činnosti autora	48

SOUHRN

Modifikace léčby progredujícího keratokonu zesíťováním kolagenu rohovky pomocí riboflavinu a UVA záření.

Úvod: Cílem mé práce je porovnání modifikace léčby progredujícího keratokonu zesíťováním kolagenu rohovky pomocí riboflavinu a UVA záření.

Metodika: Soubor retrospektivní studie zahrnuje celkem 35 očí 28 pacientů, kteří podstoupili na našem pracovišti corneal cross-linking. Soubor tvoří dvě skupiny. Skupina A zahrnuje 15 očí s abrazí epitelu rohovky v dolní polovině velikosti 8 mm. Skupina B zahrnuje 20 očí s plošným odstraněním epitelu rohovky kruhovitého tvaru velikosti 8–9 mm. Postup při provedení zesíťování rohovky byl v obou skupinách stejný. Sledovací doba skupiny A i skupiny B je jeden rok po provedení CXL.

Výsledky: Pro vyhodnocení výsledků zákroku se sledovaly, porovnávaly a vyhodnotily následující parametry: rychlost hojení rohovkového epitelu, intezita vnímání bolesti po odstranění epitelu, přítomnost Vogtových strií, korneální zkalení (haze) a jeho perzistence, počet endotelových buněk (ECC), nekorigovaná zraková ostrost (UCVA), nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA), objektivní sférická a cylindrická refrakce, osa astigmatismu. Na Pentacamu se sledovaly: keratometrie v plochém a strmém meridiánu (K_1 , K_2) a změny v nejstrmějším místě rohovky (K_{max}), elevace přední (EF) a zadní plochy (EB) rohovky, tloušťka rohovky v nejtenčím místě (CCT), centrace apexu keratokonu pomocí os x a y ve vztahu k hodnotám K_{max} a pachymetrické hodnotě nejtenčího místa na rohovce a změny na sagitálním zobrazení přední plochy rohovky (SCF). Dále se sledovala korelace hodnot K_1 , K_2 , astigmatismu přední plochy rohovky a jeho osy získaných měření na jednotlivých topografických systémech před zesíťováním rohovky a 1 rok po něm.

Závěr: Retrospektivní výsledky mé práce ukazují, že částečné i úplné odstranění epitelu je vhodné při zesíťování kolagenu rohovky s cílem zastavit progresi keratokonu, remodelovat tvar rohovky a udržet zrakovou ostrost pacienta.

Klíčová slova: keratokonus, corneal cross-linking, abraze epitelu, "epitel-off", "epitel-on"

SUMMARY

The treatment modification of progressive kretoconus using the corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation.

Aim: The aim of the study is comparison of the treatment modification of progressive kretoconus using the corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation.

Methods: The retrospective study of 35 eyes of 28 patients, who underwent the corneal cross-linking in our clinic. The study group included two groups. Group A included 15 eyes with the epithelium removal in the lower part of the cornea. Group B comprises 20 eyes with the circular shape corneal epithelium removal of size 8-9 mm. The performance of corneal cross-linking in both groups was the same. One year of follow up of both after CXL.

Results: To evaluate the results of CXL the following parameters were measured and compared: corneal epithelium healing, the pain intensity after removal of the epithelium, the Vogt striae presence, presence and persistence of corneal opacification (haze), endothelial cell count, uncorrected visual acuity (UCVA), best corrected visual acuity (BCVA), objective refraction and flat axis of astigmatism.

Pentacam measurements were evaluated: flat and steep keratometry, (K1, K2), maximum simulated keratometry, (K_{max}), elevation front (EF) and elevation back (EB), corneal pachymetry in thinnest location (CCT), apex centration with x a y axis measurement and sagittal curvature front changes (SCF). Followed correlation of flat and steep keratometry K1,K2, astigmatism and the flat axis of astigmatism were measured in different corneal topographic systems before and one year after CXL.

Conclusion: The results of my retrospective study reveals, the partial and total epithelium removal is appropriate in corneal cross-linking to stop progression of keratoconus, to remodelate corneal shape and to stabilize patient`s visual acuity.

Key words: keratoconus, corneal cross-linking, epithelium removal, "epithelium-off", "epithelium-on"

ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Změny biomechanických vlastností rohovky hrají důležitou roli v patogenezi ektatických onemocnění rohovky. Zesíťování (cross-linking) kolagenu rohovky (CXL) představuje slibnou techniku, která zpomaluje nebo dokonce zastavuje progresi ektatických patologií rohovky. V rámci tohoto výkonu se aplikuje riboflavin (vitamin B₂) v kombinaci s ultrafialovým zářením typu A (UVA, 370 nm). Tato interakce vyvolává tvorbu reaktivních forem kyslíku, které vedou k vytvoření dalších kovalentních vazeb mezi molekulami kolagenu a k následnému biomechanickému zpevnění rohovky. CXL představuje jediný etiopatogenetický přístup v léčbě ektatických onemocnění, který může zpomalit nebo zastavit proces destabilizace rohovky, jinak vedoucí k potřebě keratoplastiky. I přes slibné výsledky je technika CXL spojena s různými otázkami, včetně dlouhodobé bezpečnosti a délky trvání stabilizačního účinku.

Zesíťování kolagenu rohovky použitím standardního protokolu „epitel-off“, původně popsáným v roce 2003 Wollensakem je účinný při zastavení progresse onemocnění. I přesto, že je tato metoda obecně bezpečná,^{131,71,204,93} po standardní epitel-off CXL je vidět i řada komplikací.^{123,149,121,46,154,55,136}

Transepiteliální metoda slibuje nesporné výhody nebolestivé rehabilitace zraku a redukci komplikací souvisejících s odstraněním epitelu ve srovnání se standardním „epitel-off“ ošetřením. Zda transepiteliální CXL může poskytnout podobné výsledky zesíťování rohovky jako standardní provedení, CXL zůstává i nadále jednou z velkých otázek.

V této přehledové práci budou popsány modifikace léčby progredujícího keratokonu zesíťováním kolagenu rohovky pomocí riboflavinu a UVA záření.

CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

Cílem mé dizertační práce je porovnání jednotlivých parametrů u modifikace léčby progredujícího keratokonu zesíťováním kolagenu rohovky pomocí riboflavinu a UVA záření. U našich pacientů s progredujícím keratokonem byl corneal cross-linking proveden s odstraněním epitelu. Naším cílem bylo srovnání účinků modifikace provedení CXL a vyhodnotit bezpečnost, topografickou a funkční stabilizaci rohovky po zákroku. U pacientů jsme hodnotili topografické změny rohovky před a po zákroku.

Před provedením zákroku a po něm jsme na pravidelných kontrolách zaznamenali objektivní refrakci a keratometrické údaje na autorefraktometru, nekorigovanou a nejlépe korigovanou zrakovou ostrost, topografii rohovky přístrojem Pentacam a přístrojem Keratograph, počet endotelových buněk a rychlost hojení rohovkového epitelu.

Vyhodnotili jsme korelaci příslušných topografických výsledků získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph jeden rok po provedení zákroku.

Na Pentacamu jsme hodnotili změnu maximální simulované keratometrické hodnoty (K_{max}), průměrné hodnoty keratometrie ($K1$ a $K2$), elevační změny předního a zadního povrchu rohovky za 12 měsíců po operaci, změny pachymetrie v nejtenčím místě na rohovce a topografický pohyb centra rohovky před zákrokem a po něm. Vliv UVA záření na endotel rohovky jsme hodnotili sledováním počtu endoteliálních buněk před CXL a rok po operaci.

Vzhledem k provedení CXL s odstraněním epitelu rohovky lze očekávat různé hojení epitelu. U pacientů v obou skupinách jsme srovnávali rychlost hojení epitelu, stupeň bolesti a četnost výskytu komplikací.

MATERIÁL A METODIKA

Sledované parametry a statistická analýza dat

Pro vyhodnocení výsledků zákroku se sledovaly, porovnávaly a vyhodnotily následující parametry: rychlost hojení rohovkového epitelu, intezita vnímání bolesti po odstranění epitelu, přítomnost Vogtových strií, korneální zkalení (haze) a jeho perzistence, počet endotelových buněk (ECC), nekorigovaná zraková ostrost (UCVA), nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA), objektivní sférická a cylindrická refrakce, osa astigmatismu.

Na Pentacamu se sledovaly: keratometrie v plochém a strmém meridiánu ($K1$, $K2$) a změny v nejstrmějším místě rohovky (K_{max} – maximální simulované keratometrické hodnoty), elevace přední (EF) a zadní plochy (EB) rohovky, tloušťka rohovky v nejtenčím místě (CCT), centrace apexu keratokonu pomocí os x a y ve vztahu k hodnotám K_{max} a pachymetrické hodnotě nejtenčího místa na rohovce a změny na sagitálním zobrazení přední plochy rohovky (SCF). Dále se sledovala korelace hodnot $K1$, $K2$, astigmatismu přední plochy rohovky a jeho osy získaných měření na jednotlivých topografických systémech před zesíťováním rohovky a 1 rok po něm.

Předoperační a pooperační data byla vyhodnocena pomocí statistických programů NCSS 9 a Statistica. Data jsou prezentována v tabulkách průměrem, směrodatnou odchylkou, mediánem, minimem a maximem. Ke grafické prezentaci byl použit krabčkový a bodový graf. K porovnání obou typů operací a jejich vlivu byla použita analýza rozptylu s opakovanými měřeními s post-hoc Fisherovým LSD testem, neparametrická Friedmanova ANOVA, dvouvýběrový t-test a jeho neparametrické alternativy (Mann-Whitney, Kolmogorov-Smirnov test), párový t-test a neparametrický Wilcoxonův test. K vyhodnocení lineární souvislosti byl použit Spearmanův koeficient pořadové korelace. Stanovená hladina významnosti byla $P < 0,05$.

Soubor pacientů

V naší retrospektivní, nerandomizované studii bylo do souboru zařazeno 35 očí s progresivním keratokonem, který byl rozdělen do skupiny A a skupiny B podle tvaru a velikosti epitelové abrazie. Skupina A zahrnuje 15 očí s abrazí epitelu rohovky v dolní polovině velikosti 8 mm. Skupina B zahrnuje 20 očí s plošným odstraněním epitelu rohovky kruhovitěho tvaru velikosti 8–9 mm. Postup při provedení zesíťování rohovky byl v obou skupinách stejný. Sledovací doba skupiny A i skupiny B je jeden rok po provedení CXL.

Provedení CXL

Corneal cross-inking je ambulantní zákrok, který se provádí za sterilních podmínek na operačním sále. "Epitel-off" CXL jsme prováděli podle Drážďanského protokolu. Na ozáření rohovky jsme použili ozařovací systém UV-XTM 1000, IROC GmbH, Curych, Švýcarsko. Tento ozařovací přístroj poskytuje homogenní ozařovací sílu 3 mW/cm² na kruhovou plochu rohovky o průměru 8 mm. Ozařovaná je pouze centrální plocha rohovky.

Třicet minut před provedením corneal cross-linkingu jsme pacientovi podali léky proti bolesti. Poté jsme aplikovali 2 % pilokarpin kapky z důvodu snížení tepelného a fotochemického účinku UVA záření na ochranu čočky a sítnice před poškozením z ozáření. Ke znecitlivění rohovky jsme aplikovali lokální instilační anestezii ve formě kapek, jako lokální anestetikum jsme použili 0,4 % oxybuprocain (Benoxi kapky). Po znecitlivění rohovky jsme nasadili rozvěrač víček a odstranili epitel rohovky ve skupině A v její dolní polovině a ve skupině B cirkulárně na ploše o průměru 8,0 mm. Po odstranění epitelu jsme změřili tloušťku rohovky ultrazvukovou pachymetrií. Jako fotosenzibilizační látka se používá 0,1 % riboflavin. Riboflavin jsme aplikovali na rohovku během

30 minut každé dvě minuty. Po nasycení stromatu rohovky jsme odstranili rozvěrač víček a znovu změřili její tloušťku v předpokládaném nejtenčím místě. Výsledky pachymetrického měření jsou rozhodující pro volbu osmolarity roztoku riboflavinu k saturaci rohovky. Bezprostředně před ozáření jsme znovu změřili tloušťku rohovky. Po nasycení rohovky riboflavinem jsme kontrolovali jeho přítomnost v přední komoře pomocí štěrbinové lampy s modrým filtrem. Deepitelizovanou centrální plochu rohovky jsme ozářili UVA zářením o vlnové délce 370 nm a intenzitě 3 mW/cm². Během ozařování jsme na rohovku aplikovali riboflavin ve formě kapek každé tři minuty. Ozařování trvá 30 minut. Pooperačně jsme pacientovi nasadili terapeutickou kontaktní čočku, kterou jsme ponechali až do ukončení epitelizace rohovky v obou skupinách. Pacienti od prvního dne po operaci užívali kombinovaný preparát Tobradex ve formě kapek a umělé slzy. Po reepitelizaci rohovky jsme pokračovali v lokální kortikosteroidní léčbě Dexamethasonem po dobu čtyř týdnů. Do reepitelizace rohovky jsme pacienty sledovali denně průměrně 3-5 dní. Další kontroly byly provedeny 1, 3, 6 a 12 měsíců po zákroku, následně pacienti přicházeli na kontrolu po jednom roce.

VÝSLEDKY

Skupina A

Průměrná doba hojení rohovkového epitelu po abrazi ve skupině A byla 2,00±0,65 dní, byl nalezen statisticky významný rozdíl. Intenzita vnímání bolesti ve skupině A byla průměrně na stupni 2,26±0,70. Byl nalezen statisticky významný rozdíl. Po CXL došlo ke snížení počtu endoteliálních buněk o 2,4 %, Pokles byl statisticky významný. Rok po CXL nedošlo ke zlepšení nekorigované zrakové ostrosti UCVA, nekorigovaná zraková ostrost zůstala stabilní. Průměrná hodnota nejlépe korigované zrakové ostrosti v brýlové korekci se rok po CXL nezměnila a zůstala stabilní. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. V refrakci došlo k myopickému posunu v hodnotách sférické dioptrie průměrně o 0,24 D. Tento rozdíl nebyl statisticky významný. Průměrná hodnota astigmatismu rok po CXL narostla o 0,71 Dcyl. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota ploché osy astigmatismu se změnila rok po CXL ve skupině A o 7,4 stupně. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Topografické změny

Tloušťka rohovky v nejtenčím místě rok po CXL zůstala stejná. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Lokalizace nejtenčího místa na rohovce se rok po léčbě posunula o 0,12 mm nazálně a o 0,04 mm směrem dolů. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota keratometrie v plochém meridiánu K1 rok po CXL zůstala stabilní. Průměrná hodnota keratometrie ve strmém meridiánu K2 rok po CXL narostla o 0,5 D. Průměrná hodnota maximální simulované keratometrie K_{max} rok po CXL zlepšila o 0,66 D. Pro K1, K2 a K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Apex keratokonu se rok po léčbě posunul o 0,06 mm nazálně a o 0,05 mm nahoru. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota elevační změny předního povrchu v centru v 3mm zóny po CXL narostla o 0,8 μm . Průměrná maximální hodnota K_{max} elevační změny předního povrchu v 3mm zóně rok po CXL poklesla o 9,8 μm . Průměrná hodnota elevační změny zadního povrchu v centru v 3mm zóně po CXL narostla o 3,5 μm . Průměrná maximální hodnota K_{max} elevační změny zadního povrchu v 3mm zóně po CXL poklesla o 9,2 μm . Pro elevační změny předního a zadního povrchu rohovky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota centrální keratometrie předního povrchu na sagitálním zobrazení rok po CXL narostla o 0,87 D. Průměrná hodnota maximální keratometrie K_{max} předního povrchu na sagitálním zobrazení narostla o 0,32 D. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Hodnoty keratometrií K1 a K2 silně korelují v obou skupinách. Hodnota astigmatismu však již vykazuje slabou korelaci, stejně jako osa astigmatismu a to v obou dvou skupinách. (A1- T1axflat/P1axflat: 0,73 ($p=0,00293$), A2:T1K1/P1K1: 0,95 ($p<0,001$), A3 -T1K2/P1K2: 0,92 ($p<0,001$), A4 -T1ast/P1ast: -0,44 (0,119)).

Skupina B

Průměrná doba hojení rohovkového epitelu po abrazi ve skupině B byla $3,85\pm 0,74$ dní. Intenzita vnímání bolesti byla na stupni $3,40\pm 0,75$. Byl nalezen statisticky významný rozdíl. Byl zaznamenán pokles počtu endoteliálních buněk o 2,8 %. Rozdíl nebyl statisticky významný. Rok po CXL se nekorigovaná zraková ostrost UCVA zlepšila o 1 řádek Snellenových optotypů. Průměrná hodnota nejlépe korigované zrakové ostrosti v brýlové korekci rok po CXL zůstala stabilní. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Došlo ke zlepšení myopie průměrně o 0,8 D. Rozdíl nebyl statisticky významný. Průměrná hodnota astigmatismu rok po CXL narostla o 0,23 D_{cyl}. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota ploché osy astigmatismu se změnila rok po CXL o 7 stupňů. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Topografické změny

Tloušťka rohovky v nejtenčím místě rok po CXL poklesla o 17,7 μm . Lokalizace nejtenčího místa se rok po CXL posunula 0,08 mm nazálně a o 0,13 mm nahoru. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Hodnoty keratometrie v plochém meridiánu K1 se rok po CXL zlepšila o 0,31 D. Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu K2 se rok po CXL zlepšila o 0,1 D. Průměrná hodnota maximální simulované keratometrie K_{max} rok po CXL narostla o 0,69 D. Pro K1, K2 a K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Apex keratokonu se rok po CXL posunul přesně do středu rohovky a o 0,06 mm nahoru. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Průměrná hodnota elevační změny předního povrchu v centru v 3mm zóny po CXL poklesla o 0,6 μm . Průměrná maximální hodnota K_{max} elevační změny předního povrchu v 3mm zóně rok po CXL poklesla o 0,3 μm . Průměrná hodnota elevační změny zadního povrchu v centru v 3mm zóny po CXL poklesla o 3 μm . Průměrná maximální hodnota K_{max} elevační změny zadního povrchu v 3mm zóně po CXL poklesla o 6,1 μm . Průměrná hodnota centrální keratometrie předního povrchu na sagitálním zobrazení rok po CXL poklesla o 0,72 D. Průměrná hodnota maximální keratometrie K_{max} předního povrchu na sagitálním zobrazení poklesla o 0,44 D. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Hodnoty keratometrií K1 a K2 silně korelují v obou skupinách. Hodnota astigmatismu však již vykazuje slabou korelaci, stejně jako osa astigmatismu a to v obou dvou skupinách. (B1 -T1axflat/P1axflat: 0,56 (0,0287), B2 -T1K1/P1K1: 0,87 ($p < 0,001$), B3 -T1K2/P1K2: 0,91 ($p < 0,001$), B4 -T1ast/P1ast: -0,66 (0,00726)).

	skupina A			skupina B		
	předCXL	12M po CXL	P	předCXL	12M po CXL	P
	průměr±SD	průměr±SD		průměr±SD	průměr±SD	
UCVA (decimální)	0,37±0,28	0,34±0,29	0	0,38±0,29	0,42±0,28	0
BCVA (decimální)	0,86±0,24	0,86 ± 0,23	0	0,85±0,21	0,84±0,2	0
D	-2,4 ± 2,79	-2,74 ± 1,64	0	-3,97± 3,33	-3,17 ± 2,43	0
Dcyl	-2,53 ± 2,15	-3,24 ± 2,92	0	-2,26± 1,81	-2,49 ± 1,72	0
AX	107,4 ± 56,5	114,8 ± 62,7	0	89,7± 57,3	96,7 ± 56,6	0
CCT	464,4±34,9	461,7±35	0	470,4±32,1	452,7±34	0
osa x (CCT)	0,22±0,45	0,1±0,57	0	0,00±0,57	-0,08±0,48	
osa y (CCT)	-0,54±0,19	-0,58±0,21	0	-0,62±0,24	-0,49±0,39	
K1	45,58±4,25	45,56±4,48	0	44,78 ±3,44	44,2±3,2	1
K2	49±4,9	49,5±5,7	0	48,1±4,7	48±5,1	0
K_{max}	54,73±7,32	54,07±8,10	0	54,14±6,80	54,83±4,91	0
osa x (K_{max})	0,17±0,19	0,11±0,18	0	-0,15±0,5	0,00±0,21	0
osa y (K_{max})	-1,48±0,58	-1,43±0,6	0	-1,21±1,07	-1,15±0,89	0
elevace front centre	6,5±8,5	7,3±6,2	0	15,8±13,5	15,2±13,4	0
elevace front Kmax	20,9±16,2	11,1±11,4	0	11,2±8,1	10,9±9,5	0
elevace back centre	8,9±12,8	12,4±11,9	0	24,7±18,1	21,7±19,4	0
elevace back Kmax	27,1±19,5	17,9±18	0	17±23,3	10,9±20,6	0
sagital front centre	47,74±4,46	48,61±5,8	0	48,48±6,25	47,76±5,57	0
sagital front Kmax	53,66±6,22	53,98±6,76	0	52,74±6	52,3±5,59	0

Tab. 1 Sledované parametry, skupina A a skupina B, před a rok po CXL

SD = směrodatná odchylka, P = pravděpodobnost, UCVA = nekorigovaná zraková ostrost, BCVA = nejlépe korigovaná zraková ostrost, D = sférická dioptrie, Dcyl = cylindrická dioptrie, AX = plochá osa astigmatismu, CCT = tloušťka rohovky v nejtenčím místě, Osa x a y (CCT) = osa x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě, K1 = keratometrie v plochém meridiánu, K2 = keratometrie v strmém meridiánu, K_{max} = keratometrie v nejstrmějším místě rohovky (maximální simulovaná keratometrie), Osa x a y (K_{max}) = osa x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii, EFC = elevační změny předního povrchu rohovky v centru 3mm zóny, EFK = maximální hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, EBC = elevační změny zadního povrchu rohovky v centru 3mm zóny, EBK = maximální hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, SFC = hodnoty centrální keratometrie na sagitálním zobrazení předního povrchu rohovky, SFK = hodnoty maximální keratometrie na sagitálním zobrazení předního povrchu rohovky,

* statisticky signifikantní rozdíl (p<0,05)

DISKUZE

Keratokonuse pořád patří mezi hlavní indikace k transplantaci rohovky. Léčba zesíťováním kolagenu rohovky je zaměřena na patogenetické příčiny keratokonuse a mění vnitřní biomechanické vlastnosti kolagenu rohovky.

Klinické studie potvrdily dobré výsledky první studie z roku 2003.²¹¹ Šestileté výsledky z Drážďan ukázaly dlouhodobý účinek léčby CXL, který je založen na biomechanickém zesíťovacím efektu a reakci hojení ran.

Hlavním a nejdůležitějším účinkem zesíťování kolagenu rohovky je zastavení progresu keratokonuse. Mírné zploštění nebo dokonce „push-up“ efekt konuse lze pozorovat až u 50 % léčených pacientů v následujících měsících po zesíťování, pravděpodobně v důsledku remodelace rohovky. Také byla prokázána bezpečnost této minimálně invazivní metody. CXL má nesporně i ekonomické a osobní výhody. Životní ekonomická zátěž pacientů s keratokonusem není zanedbatelná. Průměrné trvání onemocnění je více než 37 let. V roce 2007 byl v USA odhadovaný ekonomický dopad těchto nákladů v kontextu jiných chorob zahrnujících zhoršení zraku (věkem podmíněná makulární degenerace, šedý zákal, diabetická retinopatie, glaukom a refrakční vady) na 51,4 miliard dolarů.¹⁵³

I přesto, že je tato metoda obecně bezpečná,^{131,71,204,93} po standardní „epitel-off“ CXL je vidět i řada komplikací.^{123,149,121,46,154,55,136} A právě kvůli snížení rizika pooperačních komplikací byla zavedena transepiteliální metoda CXL.

Zda transepiteliální CXL může poskytnout podobné výsledky zesíťování rohovky jako standardní provedení CXL zůstává, i nadále jednou z velkých otázek.

Mezi nesporné výhody transepiteliální CXL patří nebolestivost, nižší riziko infekce rohovky a urychlení hojení epitelu.

Raiskup ve své práci¹⁴⁶ uvádí několik studií porovnávajících „epitel-off“ a „epitel-on“ CXL. Tyto četné studie ukazují nižší účinnost „epitel-on“ CXL a progresi keratokonuse 12 měsíců po „epi-on“ CXL a potřebu opakování léčby pomocí „epi-off“ CXL. Dosud bylo zaznamenáno jen několik případů selhání léčby s probíhající progresí keratokonuse. Je třeba očekávat, že bude určitá skupina pacientů s keratokonusem, u kterých zesíťovací účinek CXL může být nedostačující k zabránění progresu onemocnění a léčení se bude muset opakovat. Pokud jde o závažné komplikace, např. těžké infekce, perforace, jizvy atd., většina z nich je důsledkem pooperační péče při použití kontaktní čočky a protizánětlivých kortikosteroidních a nesteroidních léků nebo důsledkem tloušťky stromatu menší než 400 µm. Tato fakta ale nejsou součástí standardního protokolu CXL.

Hojení epitelu, bolestivost

Rohovka je často vystavena škodlivým vlivům vnějšího prostředí (mechanické poškození, poleptání, ozáření), a tak dochází k poškození její tkáně. Poškozený povrch rohovky má schopnost reparace z tzv. kmenových limbálních buněk. Pečlivý a opatrný pooperační management je klíčem ke snížení rizika závažných komplikací po CXL. Pacienti musí být kontrolováni každý den, dokud epitel rohovky není úplně zhojen. Průměrná doba hojení rohovkového epitelu je 3–4 dny.

Pokud jde o bezpečnost, je metoda „epitel-off“ spojována s řadou komplikací, které byly popsány především v případech kazuistik. Dostupné údaje z klinických studií jasně ukazují přínos „epitel-off“ metody pro zvýšení biologické dostupnosti riboflavinu na svém cílovém místě a zvýšení hloubky a velikosti zesíťovacího účinku. Podle našich výsledků můžeme říct, že s větší plochou odstranění rohovkového epitelu se signifikantně prodloužila i doba hojení epitelu a intenzita vnímání bolestivosti zákroku.

Několik linií důkazů podporuje konvenční praxi odstranění epitelu rohovky při provádění CXL. Nicméně definitivní odpověď na to, zda se jedná o zásadní krok v protokolu léčby, bude záviset na údajích z dlouhodobých studií dále léčených očí.

Korneální zkalení a jizvení

Standardní CXL je minimálně invazivní postup. Přechodné zkalení rohovky (haze) je poměrně častý vedlejší účinek CXL a odráží proces hojení rohovky. Mezi obvyklé potíže po běžném CXL patří halo a noční glare během prvních tří měsíců v důsledku pseudohaze v předním stromatu, který je způsoben především lakunárním edémem a po několika měsících dojde k jeho spontánní regresi.^{121,123}

Je dobře známo, že haze související s CXL je odlišný od haze v souvislosti s jinou léčbou, jako je např. PRK. Ačkoliv PRK-indukovaný haze je omezen na oblast subepiteliální, haze po CXL dosahuje až 60 % hloubky stromatu. Proto vzniklo několik spekulací týkajících se etiologie haze po CXL a několik studií ve vztahu ke ztrátě keratocytů.¹²¹ Jiná potenciální vysvětlení se mohou týkat výskytu histologických změn struktury kolagenu. Po CXL vzniklé nové interlamelární spoje mohou mít vliv na prostorovou organizaci kolagenu odpovědnou za transparentci rohovkového stromatu. Tento účinek je vidět vyhodnocením změny tloušťky rohovky ihned po ošetření, kdy je přítomné značné ztenčení. I když haze a ztenčení souvisí s hojením a reorganizací kolagenu podpurné vazivové tkáně rohovky, doba změny se výrazně liší,

k projasnění rohovky dochází podstatně dříve. Pseudohaze předního stromatu odpovídá přední demarkační oblasti, kterou u pacientů lze vidět biomikroskopii,¹⁷³ optickou koherentní tomografii předního segmentu^{207,36} a v jeho histologických sekcích. Je to hlavně kvůli přítomnosti lakunárního edému kolem apoptotických keratocytů, které zvyšují rozptyl světla a mizí po 3–4 měsících.^{36,37}

Nejnovější studie konfokální mikroskopie in vivo ukazují časné a pozdní modifikace v korneální mikrostruktuře po léčbě CXL odhalující narůstající formaci cross-linků, syntezu dobře strukturovaného kolagenu a nových lamelárních mezipojů.¹²³

U pacientů s keratokonem je možné historii korneálního zkalení souvisejícího s CXL monitorovat pomocí denzitometrie u Scheimpflugova zobrazení a biomikroskopie na štěrbinové lampě.^{93,173}

Můžeme říct, že haze byl přechodně pozorován ve skupině A i přestože v této skupině byla provedena pouze poloviční abraze a ne abraze celé rohovky, jak tomu bylo ve skupině B.

Greenstein a kol.⁶⁰ prokázali, že korneální haze asociovaný s CXL je spojen s vyšší hodnotou K_{max} a svědčí o správné reakci uvnitř fibril podpůrné vazivové tkáně rohovky.

Nejintenzivnější výskyt haze jsme zaznamenali jeden měsíc po CXL, u všech pacientů s haze jsme nasadili lokální kortikosteroidní léčbu, po které intenzita haze postupně zeslábla a rok po CXL jsme nepozorovali výskyt haze již u žádné rohovky. Permanentní pokles vidění v důsledku korneálního zkalení jsme nezaznamenali.

Herman a kol. popisovali případ přechodného subepiteliálního zkalení po CXL u pacienta s keratokonem, který byl léčen topickými steroidy. Za několik měsíců po CXL stromální haze vymizel.¹⁴⁹

Raiskup a kol. analyzovali rozvoj permanentního zjizvení korneálního stromatu po provedení CXL.^{147,149} Jeden rok po CXL mělo čirou rohovku 91,4 % očí, u 8,6 % očí se vyvinulo významné zjizvení rohovky. Haze se rozvinul zejména u očí s vysokými hodnotami K_{max} v apexu (průměr $71,1 \pm 13,2$ D) a tenkou rohovkou (průměr $420,0 \pm 33,9$ μm).

Na základě výsledků je možné konstatovat, že rozvinutý keratokonus je třeba posuzovat jako onemocnění se zvýšeným rizikem zjizvení rohovky po CXL v důsledku slabé tloušťky rohovky a velkého zakřivení rohovky.^{147,149} Tyto dva faktory typické pro pokročilý keratokonus korelují s nálezem narůstající denzity fibril v extracelulární matrix v rohovkách se stromálním zkalením, viditelným při konfokální mikroskopii stejně jako nález tmavých Vogtových mikrostrií.

Jakkoliv je hruze potenciální komplikací CXL, zejména u rozvinuté keratektazie, jeho vhodná pooperační medikamentózní terapie může redukovat možný trvalý pokles zraku.¹⁴⁹

Počet endoteliálních buněk

Ztráta denzity endoteliálních buněk po CXL je velmi diskutovanou otázkou. Zcela zásadní význam při poškození endoteliálních buněk během zesíťování rohovky hraje tloušťka rohovky. Za hraniční tloušťku rohovky byla stanovena hodnota 400 μm . Pacienti s keratokonem však mají často tloušťku rohovky kolem 400 μm . Kymionis a kol. popsali výsledky po provedení CXL u pacientů s tenkou rohovkou, tenčí než 400 μm . Zjistili významné snížení denzity endoteliálních buněk z počtu 2733 ± 180 buněk/ mm^2 na 2441 ± 400 buněk/ mm^2 .¹⁰⁶ Autoři popisují podmínky léčby s použitím isoosmolárního roztoku 0,1 % riboflavinu a 20 % dextransu. Dextran v isoosmolárním roztoku riboflavinu omezuje otok rohovky, pomáhá udržovat a kontrolovat prostředí s cílem zajistit maximální účinnost CXL. Zdrojem peroperační redukce edému korneálního stromatu mohl být právě dextran.¹⁵¹ Ten mohl způsobit i zrychlené ztenčování již tak tenké rohovky a být důvodem poškození endoteliálních buněk.

Apoptóza keratocytů byla v experimentálních a klinických studiích standardního provedení CXL pozorována až do hloubky 350 μm .¹⁷⁸

V Siena Cross Study²² byla zaznamenána ztráta denzity endoteliálních buněk na pozadí věkem souvisejících změn s centrální tloušťkou deepitelizovaných rohovek více než 400 μm . Významná ztráta denzity endoteliálních buněk a selhání endotelu byly zjištěny u tenčích rohovek.^{106,54} Dnes se u pacientů s tenkou rohovkou běžně používá roztok hypoosmolárního riboflavinu s cílem zvýšit tloušťku rohovky před expozicí UVA zářením. Tato technika byla původně popsána Hafezima a kol.⁶⁵ u 20 očí s více než 320 μm původní tloušťky rohovky po odstranění epitelu. Po dobu šesti měsíců nebyly zjištěny žádné komplikace nebo progresse ektazie. Podobné povzbudivé výsledky jeden rok po CXL pomocí hypoosmolárního riboflavinu u tenčích rohovek zjistili Raiskup a kol.¹⁵⁰ v prospektivní studii 32 očí.

V našem souboru po ročním sledování po CXL došlo ve skupině A ke statisticky významnému snížení počtu endoteliálních buněk o 2,4 % , ve skupině B nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Úbytek počtu endoteliálních buněk ve skupině A vysvětlujeme přítomností očí s pokročilým keratokonem. U všech pacientů s tenkou rohovkou jsme po deepitelizaci rohovky během CXL použili roztok hypoosmolárního riboflavinu.

Zpevňování rohovky je možné provést pouze v případech, kdy je tloušťka rohovkového stromatu ≥ 320 μm před bobtnáním rohovky pomocí hypoosmolárního roztoku riboflavinu.

Vlivem CXL tedy nedochází k poškození endoteliálních buněk, neboť energie záření klesá směrem k endotelu až pod hraniční mez. Počet endoteliálních buněk se u keratokonických rohovek před operací a rok po operaci významně nemění.

Zraková ostrost

Studie prokázaly, že i samotný cross-linking kolagenu rohovky ovlivňuje vidění pacienta. Vlivem CXL dochází ke stabilizaci tvaru rohovky v důsledku snížení její strmosti, a tím ke zlepšení jejího tvaru. Tato změna má za následek zlepšení nebo alespoň stabilizaci nejlépe korigované zrakové ostrosti do dálky (v brýlové nebo čočkové korekci).^{148,211,20,133,22}

V roce 2003 Wollensak a kol.²¹¹ poprvé popsali kolagen cross-linking pro léčbu keratokonu u lidí. Zjistili, významné zlepšení nejlépe korigované zrakové ostrosti. Další četné studie^{20,148,61,1,71} prokázali zlepšení morfologické souměrnosti s výrazným snížením chromatické aberace. Stabilní BCVA, sférický ekvivalent, přední a zadní rohovkové zakřivení a elevační změny rohovky jeden rok po zesíťování rohovkového kolagenu ukazují, že keratokonus dále neprogredoval. Caporossi a kol.²² analyzovali v prospektivní, nerandomizované otevřené studii Siena Eye Cross Study výsledky u 44 očí. Potvrdili stabilitu keratokonu po provedení CXL bez relevantních vedlejších účinků až po dobu 60 měsíců po operaci.

V roce 2014 Wittig-Silva a kol.²⁰³ analyzovali výsledky prospektivní, randomizované kontrolované studie 100 očí s progresivním keratokonem. Vyhodnotili refrakční, topografické a klinické výsledky 3 roky po provedení „epitel-off“ CXL. Změny hodnocených parametrů byly statisticky významně lepší. Výsledky této randomizované kontrolované studie ukazují účinnost léčby CXL u progresivního keratokonu se zlepšením K_{max} , UCVA a BCVA 36 měsíců po zesíťování rohovky a progresi těchto parametrů v kontrolní skupině během stejného období. Metoda CXL by měla být nadále považována za možnost léčby pro pacienty s progresivním keratokonem.

V roce 2015 O'Brart a kol.¹³² hodnotili v prospektivní kohortové studii dlouhodobou účinnost a bezpečnost zesíťování rohovky. Potvrdili úspěšnost léčby keratokonu po jednom roce, zlepšování parametrů rohovky po dobu 5 let po provedení CXL a stabilizaci keratokonu 7 let po zesíťování rohovky. Progrese onemocnění nebyla zaznamenána u žádného z léčených očí 7 let po CXL.

V roce 2015 Raiskup a kol.¹⁵³ v retrospektivní studii vyhodnotili 10leté výsledky 34 očí léčených pro progresivní keratokonus od roku 2000 do roku 2004 pomocí CXL. Prokázali účinnost CXL při léčbě progresivního keratokonu, dosažení dlouhodobé stabilizace tvaru rohovky po CXL, a tím i zlepšení zrakové ostrosti pacientů.

Rok po CXL jsme zaznamenali zlepšení nekorigované zrakové ostrosti (UCVA) přibližně o jeden Snellenův řádek ve skupině B, která však nebyla statisticky významná. Ve skupině A zůstala nekorigovaná zraková ostrost stabilní. BCVA v brýlové korekci zůstala stabilní v obou skupinách. V naší studii bylo dosaženo podobných výsledků jako u kolegů z Indie.¹

Zdá se, že jak parciální abraze rohovkového epitelu, tak i cirkulární odstranění epitelu má podobný vliv na UCVA. Avšak z hlediska jejich účinku na irregularity rohovky a zlepšení UCVA se zdá být cirkulární abraze epitelu lepší.

Zlepšení nekorigované zrakové ostrosti reprezentované topograficky na sagitálním zobrazení na Pentacamu jsme zaznamenali ve skupině s kruhovou abrazí epitelu. Rozdíl byl klinicky diskrétní a statisticky nevýznamný v obou skupinách.

CCT, biomechanika, hydratace a objem rohovky

Denzita keratocytů je největší v předních 10 % korneálního stromatu a nejnižší v zadních 40 % stromatu rohovky. Předběžné studie uvádějí, že tahová síla je největší v přední třetině a nejmenší v zadních dvou třetinách rohovkového stromatu. Elastický modul keratokonické rohovky je 1,6–2,5 (průměrně 2,1) krát menší než u normální rohovky.¹¹⁹

Výsledky experimentů ukazují, že CXL s riboflavinem a UVA zářením in vitro má přímý vliv na hydrataci rohovky ihned po zákroku. Normální hydratace hovězí rohovky je 77,5 %³⁷, hydratace lidské rohovky je po imerzi 20 % dextranem před ozářením 72 % a po něm 69 %. Wollensak a kol.²⁰⁷ použitím světelné mikroskopie prokázali, že CXL má vliv na hydratační vlastnosti rohovky.

Výsledky této studie přímým in vitro měřením rohovkové hydratace ukazují, že tato metoda má vliv nejen na otokové vlastnosti rohovkové tkáně při indukovaném edému, ale také na její hydrataci za dehydratovaných podmínek. Bylo prokázáno, že pružnost rohovky úzce souvisí s její hydratací.^{72,73}

U edematózních rohovek je roztažnost rohovkové tkáně vyšší než u normálně hydratované rohovky. Pokles hydratace rohovky může vést ke snížení rohovkové elasticity a snížená hydratace zesíťované rohovky může být jedním z faktorů, i když minoritním, který vede ke zvýšení biomechanické stability v důsledku CXL.

Poslední dobou byly studovány výsledky CXL u edematózních rohovek trpících endoteliální dekompenzací.^{207,73} Autoři uvádějí, že aplikace léčby CXL je primárním faktorem k výraznému zlepšení transparence rohovky a snížení rohovkové pachymetrie, ačkoli se zdá, že tento účinek je dočasný.^{53,13} Výsledky tohoto experimentu potvrzují klinické pozorování, že hydratace rohovky se sníží bezprostředně po zákroku. Vinciguerra a kol.¹⁹⁹ uvádějí, že u keratokonických rohovek léčených CXL kromě zlepšení zrakové ostrosti a topografie dochází i k poklesu celkového objemu rohovky a periferní rohovkové pachymetrie měřené Scheimpflugovým zobrazením. Naopak snížení centrální tloušťky rohovky zjištěno nebylo. Caporossi a kol.²² nezjistili žádné změny centrální tloušťky rohovky měřené ultrazvukovou pachymetrií a předněsegmentovým OCT, ale zaznamenali rozdíl měřením optickou tomografií, který přisuzovali změnám reflektivity. V naší studii byla centrální tloušťka rohovky peroperačně měřena ultrazvukovou pachymetrií. Vyhodnotili jsme centrální tloušťku rohovky v nejtenčím místě získanou měřením na Scheimpflugovém zobrazení před CXL a 1, 3, 6 a 12 měsíců po zákroku. Naše výsledky ukázaly, že 1–6 měsíců po CXL hodnota CCT poklesla v obou skupinách, významněji ve skupině s cirkulární abrazí epitelu rohovky. Ale jeden rok po operaci, CCT u obou skupin poklesla téměř stejně, vrátila se téměř k předoperační hodnotě tloušťky rohovky a zůstala stabilní. Rechichi a kol.,¹⁵⁵ který používá disrupci epitelu, ukázal stabilitu tloušťky rohovky 6–12 měsíců po operaci. S ohledem na způsob abraze epitelu u „epitel-on“ metody se předpokládá, že tloušťka rohovky bude mít lepší epiteliální retenci v porovnání s metodou „epitel-off“. Nezjistili jsme žádné singifikantně významné změny v hodnotách CCT v obou skupinách. Nicméně ve skupině B v průběhu prvního roku po CXL byl pozorován významnější pokles tloušťky rohovky. V některých studiích bylo prokázáno^{162,25,82} snížení hodnot CCT i přes zploštění rohovky. Patofyziologie těchto změn není dosud podrobně prozkoumána, nicméně klíčovou roli ve ztenčení rohovky po CXL může hrát pooperační apoptóza keratocytů a strukturální změny kolagenových vláken rohovky a extracelulární matrix.^{122,91,92} Pro další tvrzení bude potřeba vyhodnotit opakovatelnost CCT na Pentacamu po CXL. V literatuře je uvedeno, že tloušťka rohovky silně koreluje s její hydratací.⁶⁹ V důsledku snížení pooperační hydratace rohovky se očekává snížení tloušťky rohovky. Je ale možné, že po CXL by tento efekt mohl být kompenzován zvýšením průměru kolagenních vláken.^{215,129} Wollensak a kol.²¹² ve své studii zjistili významný nárůst biomechanické pevnosti prasečí a lidské rohovky léčené CXL, jak uvádí zvýšení kalkulovaného Youngova modulu.

Nárůst byl signifikantně vyšší u lidské rohovky než u prasečí rohovky. Tento fakt byl přičítán tloušťce rohovky u prasat, která je vyšší než u člověka, což vede k menšímu procentu zesíťované rohovky v porovnání s lidskou rohovkou. CXL má vliv na předních 300 μm lidské rohovky.²⁰⁵

CXL vede ke zvětšení tloušťky kolagenních vláken v přední části stromatu o 4,5 %.²¹⁵ 65 % UV záření je absorbováno v prvních 200 μm . Lineárně klesá koncentrace riboflavinu se zvyšující se hloubkou rohovky v souladu s difuzním gradientem.³⁴ U pokročilého keratokonu se tloušťka rohovkového stromatu zmenšuje, rohovka se postupně ztenčuje. Hraniční hodnota tloušťky rohovky pro provedení CXL byla stanovena na 400 μm . V případě pacientů, u kterých je tloušťka rohovky menší než 400 μm a je u nich zachována dobrá, nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA) můžeme provést zpevnění rohovky pomocí CXL. Podmínkou je předoperačné použití hypoosmolárního roztoku riboflavinu, za pomoci kterého tenká rohovka nabobtná na tloušťku stromatu minimálně 400 μm . Aplikace hypoosmolárního roztoku riboflavinu chrání zesíťovanou rohovku před vznikem stromálních jizev a ztráty endoteliálních buněk.^{150,152} 0,1 % vodní roztok riboflavinu aplikován na rohovku každých 10 sekund po dobu dvou minut. V případě stromální tloušťky rohovky menší než 400 μm je možné modifikovat standardní protokol CXL.^{208,65,103,206}

Zpevnování rohovky se může provést pouze v případech, kdy je tloušťka rohovkového stromatu ≥ 320 μm před bobtnáním rohovky pomocí hypoosmolárního roztoku riboflavinu.⁶⁵

Všechny tyto metody mají také slabší zesíťující účinek než standardní CXL, i když by bylo žádoucí, aby byl účinek u tenčí rohovky silnější. Proto je léčba tenké rohovky stále problematická.

Přední stroma bobtná jen nepatrně, zadní část stromatu bobtná výrazně.⁴⁹

Po provedení CXL pomocí zobrazovací techniky lze zaznamenat přítomnost demarkační linie, která svědčí o zesíťování kolagenu rohovky. V našem souboru bylo několik pacientů léčeno za použití hypoosmolárního riboflavinu. Aplikace hypoosmolárního roztoku riboflavinu ochránila zesíťovanou rohovku před vznikem stromálních jizev a výraznou ztrátou endoteliálních buněk.

Elevační změny předního a zadního povrchu, K_{max} a „push-up“ efekt po CXL

V současné době bylo vyvinuto několik rohovkových topografických systémů pro detekci keratokonu.¹¹⁵ Většina z těchto systémů používá rohovkovou topografii na bázi kroužků (Placidův disk) a umožňuje získat informace pouze o předním povrchu rohovky.

V souvislosti s analýzou zadního povrchu rohovky vznikl nový pojem označovaný jako rohovková tomografie. Pojem rohovková topografie zahrnuje popis pouze předního povrchu rohovky (mapy sagitální a tangenciální, refrakční a elevační mapy a wavefront dekompozici) čili topografická data, která lze získat na bázi Placidova disku. Pojem rohovková tomografie zahrnuje vlastnosti obou ploch rohovky a vytváří základní 3-D mapy na podkladě matematické kalkulace dat získaných měřeními rohovky. Tento pojem se používá pro diagnostickou charakteristiku předního a zadního povrchu rohovky včetně pachymetrické mapy. S příchodem Scheimpflugova zobrazení (Pentacam, Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Německo) nastala velká progresa v měření elevačních dat přední a zadní plochy rohovky a v konstrukci detailní pachymetrické mapy. Výšková data poskytují přesnější reprezentaci skutečného tvaru rohovky, protože jsou nezávislá na ose, orientaci a pozici.

V současné době jsou k dispozici dva druhy rohovkových topografických systémů, pomocí kterých lze měřit zadní povrch rohovky: slit imaging rohovkový topograf (Orbscan, Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA) a rotující 3D-Scheimpflugova kamera (Pentacam, Oculus Optikgeräte, Wetzlar, Německo). Nedávné studie uvádějí, že časné morfologické změny u očí s keratokonem mohou být přítomny nejen na předním povrchu rohovky, ale i na zadním povrchu rohovky.⁹⁴ Kromě elevačních změn předního a zadního povrchu rohovky lze časné změny zaznamenat i u tloušťky rohovky. Jak bylo prokázáno, nejvhodnějším referenčním tělesem k detekci lokálních změn u keratokonu je torický elipsoid. Tloušťka rohovky a elevační změny zadního povrchu rohovky se ukázaly být vysoce spolehlivými diagnostickými parametry onemocnění.^{94,95} V naší studii bylo měření elevačních změn předního a zadního povrchu rohovky provedeno v režimu BFTE – Best Fit Toric Ellipsoid přístrojem Pentacam (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Německo).

Předpokládejme přibližně stejnou hloubku průniku riboflavinu u všech očí během CXL čili zesíťování rohovkového kolagenu může mít vliv na hlubší stromální tkáň rohovky ve srovnání s tenčími rohovkami. Tato tvrzení naznačují, že prostřednictvím CXL je ovlivněna tlustší část stromální tkáně s pravděpodobným výraznějším lokálním zplošťujícím účinkem měřeným po zákroku.^{94,95,96}

Ukázalo se, že nejvíce charakteristickým parametrem zploštění rohovky po CXL je elevační změna zadního povrchu rohovky (Elevation Back, EB) následovaná hodnotami keratometrií K1 a maximální simulované keratometrie (K_{max}).⁹⁶ Kinga Kránitz a kol.⁹⁶ ve své studii prokázali, že elevace zadního povrchu rohovky měřená Pentacamem je vysoce citlivý parametr pro sledování zploštění

rohovky po CXL. Zjistili, že jak CXL, tak i počáteční tloušťka rohovky v nejtenčím místě měly významný vliv na hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky jeden rok po CXL s významným negativním vlivem vyšší počáteční tloušťky rohovky na účinek CXL.

Naše výsledky ukazují změny ve tvaru keratokonické rohovky po CXL prokázané Scheimpflugovým zobrazením, které však nebyly statisticky významné.

I když tento zplošťující účinek CXL je již znám z předchozích studií hodnotících přední povrch rohovky,^{94,92,120} naše studie prokázala zploštění rohovky jak přední, tak zadní plochy rohovky na podkladě analýzy výškových map Scheimpflugova zobrazení. Snížení elevace zadního povrchu rohovky a pokles hodnot K_{max} ukazují zploštění rohovky po CXL.

V roce 2003 Wollensak a kol.²¹¹ poprvé provedli CXL pro léčbu keratokonu u lidí. Léčili 23 očí zjistili, že progresse keratokonu byla zastavena u všech léčených očí s regresí maximální keratometrie (K_{max}) o 2,01 D u 70 % pacientů. Došlo ke zlepšení BCVA a ke snížení o refrakční vady. Podobné povzbudivé výsledky dosáhli i další kolegové^{15,20,148,204,76,1,22,71}

V roce 2015 Raiskup¹⁵³ a kol. v retrospektivní studii vyhodnotili 10leté výsledky 34 očí léčených pro progresivní keratokonus od roku 2000 do roku 2004 pomocí CXL. Zjistili, že hodnota střední apikální keratometrie (K_{max}) byla před operací 61,5 D a 10 let po operaci klesla na 55,3 D. Průměrné hodnoty pro maximální K (před operací 53,2 D a 49,56 D 10 let po operaci) a minimální K (před operací 47,5 D a 45,5D 10 let po operaci) byly rovněž statisticky výrazně nižší.

Tyto četné studie prokazují úspěšnost léčby CXL.

V naší studii zůstaly hodnoty K_{max} jeden rok po CXL stabilní a progresse keratokonu byla zastavena u všech léčených očí. Nedošlo ke statisticky významné regresí v hodnotách maximální simulované keratometrie jako u většiny provedených studií.^{211,20,148,204,1,22}

Na Pentacamu centrální tloušťka rohovky zobrazuje geometrický střed rohovky. Proto centrace zobrazuje osy x a y jako nulové hodnoty. U keratokonických očí je nejtenčí pachymetrická hodnota rohovky decentrována. Tuto decentraci popisují osy x a y. Směr osy x je ze strany pacienta zprava doleva, pokud pacient sedí naproti lékaři. Směr osy y je zdola nahoru. V minulosti již bylo zaznamenáno, že mírné zploštění, nebo dokonce „push-up“ efekt konu lze pozorovat až u 50 % léčených pacientů v následujících měsících po zesíťování pravděpodobně v důsledku remodelaci rohovky.⁹⁶ Toto tvrzení lze verifikovat měřením os x a y v nejtenčím místě tloušťky rohovky a hodnotách os x a y maximální simulované keratometrie na Pentacamu.

Ve skupině A se rok po léčbě apex keratokonu posunul o 0,06 mm nazálně a o 0,05 mm nahoru. Rok po zesíťování rohovky se apex keratokonu ve skupině B posunul přesně do středu rohovky a o 0,06 mm nahoru. V obou skupinách tedy došlo k centraci apexu keratokonu. Tvrzení o „push-up“ efektu keratokonu po CXL můžeme potvrdit i naší studií. Rozdíl v naší studii byl klinicky malý a statisticky nevýznamný. Pro další tvrzení bude potřeba vyhodnotit větší soubor a opakovatelnost měření na Pentacamu po CXL.

„Push-up“ efekt jsme se snažili potvrdit i měřením pachymetrie v nejtenčím místě na rohovce.

Rok po léčbě se nejtenčí místo na rohovce posunulo ve skupině A o 0,12 mm nazálně a o 0,04 mm směrem dolů. Ve skupině B se rok po zesíťování rohovky lokalizace nejtenčího místa posunula 0,08 mm nazálně a o 0,13 mm nahoru.

„Push-up“ efekt v obou parametrech potvrzuje centraci apexu keratokonu, pravděpodobně v důsledku remodelace rohovky.

Korelace topografických výsledků Keratograph/Pentacam

Jednotlivé přístroje měří pro nás potřebné stejné parametry na různých principech. Proto jsme si položili otázku, zda stejné hodnoty parametrů naměřené na dvou topografických přístrojích budou sobě odpovídat, a pokud ne, který z přístrojů je citlivější, a tedy i vhodnější pro vstupní měření a získání kontrolních dat po zesíťování rohovky. Rok po provedení zákroku jsme pozorovali, jak korelují příslušné topografické výsledky získané Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph.

Při srovnání hodnot keratometrií získaných měření na topografických přístrojích Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph jeden rok po CXL jsme zjistili, že hodnoty keratometrií K1 a K2 silně korelují v obou skupinách. Hodnota astigmatismu však již vykazuje slabou korelaci stejně jako osa astigmatismu a to v obou dvou skupinách.

Podle našich výsledků je pro keratometrické čtení vhodné použití obou přístrojů, pro čtení hodnoty astigmatismu a jeho osy preferujeme Scheimpflugovo zobrazení na přístroji Pentacam s ohledem na jeho větší přesnost měření v centrální zóně.

Raiskup a kol.¹⁵³ ve své retrospektivní studii analyzovali 10leté výsledky měření keratometrie před a po provedení CXL za použití dvou různých technik, C-Scan videokeratoskopu (Technomed GmbH) a Scheimpflugova zobrazení na přístroji Pentacam HR (Oculus, Wetzlar, Německo). Byly zpracovány výsledky měření na začátku éry CXL a 10 let po provedení „epitel-off“ CXL.

Pro lepší a didaktické pochopení výsledků popsali hodnoty mediánů místo průměrných hodnot. V době zavádění CXL byla rozšířená pouze rohovková topografie na bázi Placidova disku a pacienti s těžkým keratokonem a velmi vysokými hodnotami keratometrií (nejvyšší hodnota keratometrie na apexu 66,9 D) ovlivňovali výsledky průměrné hodnoty keratometrie.

Studie analyzující měření na základě dvou odlišných principů uvádějí, že systémy nejsou plně zaměnitelné, a přesto vzájemně dobře korelují pokud jde o střední hodnoty keratometrií.¹⁵³ Podobných výsledků bylo dosaženo i v naší studii.

Objektivní potvrzení účinků CXL

Craig a kol.³³ provedli v roce 2014 metaanalýzu všech dosud publikovaných randomizovaných kontrolovaných studií, která jako první analyzovala výsledky 49 studií a komentuje je z hlediska „Evidence based medicine“. Tato metaanalýza vyhodnocuje vizuální, refrakční a topografické výsledky zesíťování rohovky a poskytuje tak objektivní informace o efektivitě, účinnosti a bezpečnosti „epitel-off“ CXL. Analyzuje i selhání léčby s následnou progresí keratokonu a četnost komplikací po „epi-off“ CXL.

Zahrnuje 29 prospektivních a 12 retrospektivních studií a klade si otázku, zda-li je možné potvrdit dlouhodobý účinek „epitel-off“ CXL.

Dlouhodobý účinek a efektivitu metody „epitel-off“ prokázali v roce 2015 O'Brart a kol.²¹⁷ v australské randomizované studii se sledovacím obdobím 7,5 roku. Potvrdili úspěšnost léčby keratokonu po jednom roce, zlepšování parametrů rohovky po dobu 5 let po provedení CXL a stabilizaci keratokonu 7 let po zesíťování rohovky. Progrese onemocnění nebyla zaznamenána u žádného z léčených očí 7 let po CXL.

Raiskup a kol.²¹³ v retrospektivní nerandomizované studii publikovali dokonce 10leté výsledky očí léčených pro progresivní keratokonus od roku 2000 do roku 2004 pomocí „epitel-off“ CXL. Statisticky významné zlepšení zrakové ostrosti a regrese hodnot maximální simulované keratometrie ukazují účinnost CXL při léčbě progresivního keratokonu, dosažení dlouhodobé stabilizace tvaru rohovky po CXL, a tím i zlepšení zrakové ostrosti pacientů.

Na další hodnocení efektivity a bezpečnosti zesíťování rohovky je potřebné provedení dalších studií s dlouhodobým sledováním jednotlivých parametrů.

ZÁVĚR

Cílem mé dizertační práce bylo porovnání účinků modifikace provedení CXL a vyhodnocení bezpečnosti, topografické a funkční stabilizace rohovky po zákroku.

Retrospektivní výsledky mé práce ukazují, že částečné i úplné odstranění epitelu je vhodné při zesíťování kolagenu rohovky s cílem zastavit progresi keratokonu, remodelovat tvar rohovky a udržet zrakovou ostrost pacienta.

Pokud jde o bezpečnost, je metoda „epitel-off“ spojována s řadou komplikací. Bezpečnost zesíťování rohovky můžeme potvrdit našimi výsledky prostřednictvím úbytku endoteliálních buněk, který byl téměř stejný v obou skupinách a odpovídal průměrnému ročnímu věkem podmíněnému úbytku endotelových buněk. Typ provedené abrazie neměl vliv na četnost výskytu korneálního zkalení. Po intenzivní lokální kortikosteroidní léčbě vymizel do 12 měsíců po CXL u všech pacientů.

Vnímání bolesti po zákroku bylo intenzivnější u pacientů s celkovým odstraněním epitelu, což dáváme do souvislosti s delší dobou hojení rohovkového epitelu v porovnání s epiteliálním hojením při částečné abrazi.

Funkční stabilizaci rohovky jsme potvrdili i hodnocením zrakové ostrosti. Zlepšení nekorigované zrakové ostrosti reprezentované topograficky na sagitálním zobrazení na Pentacam u jsme zaznamenali ve skupině s kruhovou abrazí epitelu. Nicméně nejlépe korigovaná zraková ostrost zůstala stabilní v obou skupinách. Ve skupině s kruhovou abrazí jsme zaznamenali také lepší objektivní refrakci.

Pokud jde o zploštění rohovky, nejvíce charakteristickým parametrem zploštění rohovky po CXL je elevační změna zadního povrchu rohovky následována hodnotami keratometrií $K1$ a K_{max} . Významnější elevační změny předního a zadního povrchu rohovky jsme zjistili ve skupině s částečnou abrazí, ale výška nad referenčním tělesem zůstala menší ve skupině s kruhovou abrazí.

Kromě stabilizace onemocnění statisticky významné zlepšení ve smyslu regrese v hodnotách v $K1$ jsme zjistili ve skupině B a v hodnotách K_{max} ve skupině A. Tento rozdíl byl však klinicky disktrétní, přibližně 0,5 D.

Tvrzení o „push-up“ efektu keratokonu po CXL můžeme potvrdit i naší studií. V obou skupinách tedy došlo k koncentraci apexu keratokonu prostřednictvím měření osy x a y ve vztahu k pachymetrii v nejtenčím místě na rohovce a maximální simulované keratometrii. „Push-up“ efekt v obou parametrech

potvrzuje remodelaci rohovky a centraci apexu keratokonu. „Push-up“ efekt byl o něco výraznější u celkové abraze než částečného odstranění epitelu. Zjistili jsme, že pro keratometrické čtení je vhodné použití obou přístrojů jak Pentacamu, tak i Keratographu, pro čtení hodnoty astigmatismu a jeho osy preferujeme Scheimpflugovo zobrazení na přístroji Pentacam s ohledem na jeho větší přesnost měření v centrální zóně. Ve světle těchto výsledků a vzhledem k rychlejší reepitelizaci by částečné odstranění epitelu mohlo nahradit celkovou epiteliální abrazi, v některých subpopulacích keratokonu např. v méně pokročilých případech nebo u pacientů s tenčími rohovkami. Limitací mé studie je její retrospektivní charakter, a proto k vyvození závěru s naprostou jistotou je potřeba randomizovanou klinickou studii s dlouhou periodou sledování.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Agrawal VB. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet - a light for keratoconus: results in Indian eyes. *Indian J Ophthalmol* 2009;57(2): 111-4.
2. Ahearne M, Yang Y, Then KY, Liu KK. Non-destructive mechanical characterisation of UVA/riboflavin crosslinked collagen hydrogels. *Br J Ophthalmol* 2008;92(2):268-71.
3. Alio JL, Toffaha BT, Pinero DP, Klonowski P, Javaloy J. Cross-linking in progressive keratoconus using an epithelial debridement or intrastromal pocket technique after previous corneal ring segment implantation. *J Refract Surg* 2011;27(10):737-43.
4. Ambrosio R Jr, Nogueira LP, Caldas DL, Fontes BM, Luz A, Cazal JO, Alves MR, Belin MW. Evaluation of Corneal Shape and Biomechanics before LASIK, *International Ophthalmology Clinics*, Volume 51, Number 2, 2011; 11-39.
5. Andreassen TT, Simonsen AH, Oxlund H. Biomechanical properties of keratoconus and normal corneas. *Exp Eye Res* 1980;31(4):435-41.
6. Avetisov S, Mamikonian V, Novikov I. [The role of tear acidity and Cu-cofactor of lysyl oxidase activity in the pathogenesis of keratoconus]. *Vestn Oftalmol* 2011;127(2):3-8.
7. Bagga B, Phujsa S, Murthy S. Endothelial failure after collagen cross-linking with riboflavin and UV-A: case report with literature review. *Cornea* 2012.
8. Bakke EF, Stojanovic A, Chen X, Drolsum L. Penetration of riboflavin and postoperative pain in corneal collagen crosslinking. *Excimer laser superficial* 35, 1363–1366 (2009).
9. Barnett M, Mannis MJ. Contact lenses in the management of keratoconus. *Cornea* 2011; 30(12): 1510–1516.

10. Bao G, Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials. *Nature Mater.* 2003;2:715–725.
11. Bawazeer A, Hodge W, Lorimer B. Atopy and keratoconus: a multivariate analysis. *Br J Ophthalmol.* 2000; 84: 834-836.
12. Bilgihan K, Hondur A, Sul S, Ozturk S. Pregnancy-induced progression of keratoconus. *Cornea* 2011;30(9):991-4.
13. Bottós KM, Hofling-Lima AL, Barbosa MC, Barbosa JB Jr, Dreyfuss JL, Schor P, Nader HB (2010) Effect of collagen cross-linking in stromal fibril organization in edematous human corneas. *Cornea* 29:789–93.
14. Boxer Wachler BS, Christie JP, Chandra NS, Chou B, Korn T, Nepomuceno R. Intacs for keratoconus. *Ophthalmology* 2003;110(5):1031-40.
15. Braun E, Kanellopoulos J, Pe L, Jankov M. Riboflavin / Ultraviolet A Induced Collagen CrossLinking in the Management of Keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:E-Abstract 4964.
16. Mencucci R, Mazzotta C, Rossi F, et al. Riboflavin and ultraviolet A collagen crosslinking: in vivo thermographic analysis of the corneal surface. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(6):1005-8.
17. Bron AJ. UV-riboflavin cross-linking of the cornea in bullous keratopathy: appraising the rationale. *Cornea* 2011;30(6):724-6. Cannon DJ, Davison PF. Aging, and crosslinking in mammalian collagen. *Exp Aging Res* 1977;3(2):87-105.
19. Cannon DJ, Foster CS. Collagen crosslinking in keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17(1):63-5.
20. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin- ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 2006;32(5):837-45.
21. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T, Denaro R. Age-Related Long-Term Functional Results after Riboflavin UV A Corneal Cross-Linking. *J Ophthalmol*;2011:608041.

22. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol* 2010; 149(4): 585–593.
23. Chai D, Gaster RN, Roizenblatt R, Juhasz T, Brown DJ, Jester JV. Quantitative Assessment of UVA-Riboflavin Corneal Cross-Linking Using Nonlinear Optical Microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4231-8.
24. Chan CCK, Sharma M, Wachler BSB. Effect of inferior-segment Intacs with and without C3-R on keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33(1): 75–80.
25. Cinar Y, Cingu AK, Turkcu FM, et al. Comparison of accelerated and conventional corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus. *Cutan Ocul Toxicol*. 2013.
26. Colin J, Malet FJ. Intacs for the correction of keratoconus: two-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(1):69- 74.
27. Colin J, Velou S. Current surgical options for keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29(2): 379–386.
28. Coskunseven E, Jankov MR II, Hafezi F. Contralateral eye study of corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation in patients with keratoconus. *J Refract Surg*. 2009;25:371-376.
29. Coskunseven E, Jankov MR, Hafezi F, Atun S, Arslan E, Kymionis GD. Effect of treatment sequence in combined intrastromal corneal rings and corneal collagen crosslinking for keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35(12): 2084–2091.
30. Coskunseven E, Kymionis GD, Tsiklis NS, Atun S, Arslan E, Siganos CS et al. Complications of intrastromal corneal ring segment implantation using a femtosecond laser for channel creation: a survey of 850 eyes with keratoconus. *Acta Ophthalmol* 2011; 89(1): 54–57.
31. Coskunseven E, Kymionis GD, Tsiklis NS, Atun S, Arslan E, Jankov MR et al. One-year results of intrastromal corneal ring segment implantation (KeraRing) using femtosecond laser in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2008; 145(5): 775–779.

32. Coskunseven E, Onder M, Kymionis GD, et al. Combined Intacs and posterior chamber toric implantable Collamer lens implantation for keratoconic patients with extreme myopia. *Am J Ophthalmol* 2007;144(3):387-9.
33. Craig JA, Mahon J, Yellowlees A, Barata T, Glanville J, Arber M, Mandava L, Powell J, Figueiredo F: Epithelium-Off Photochemical Corneal Collagen Cross-Linkage Using Riboflavin and Ultraviolet A for Keratoconus and Keratectasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Ocular Surface* ISSN: 1542- 0124.
34. Cui L, Huxlin KR, Xu L, MacRae S, Knox WH. High-resolution, noninvasive, two-photon fluorescence measurement of molecular concentrations in corneal tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci*;52(5):2556-64.
35. Daxer A, Misof K, Grabner B, Ettl A, Fratzi P. Collagen fibrils in the human corneal stroma: structure and aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(3):644-8.
36. Doors M, Tahzib NG, Eggink FA, Berendschot TTJM, Webers CAB, Nuijts RMMA. Use of anterior segment optical coherence tomography to study corneal changes after collagen cross-linking. *Am. J. Ophthalmol.* 148, 844–851 (2009).
37. Dougherty PJ, Wellish KL, Maloney RK (1994) Excimer laser ablation rate and corneal hydration. *Am J Ophthalmol* 118:169–76.
38. Eberwein P, Auw-Hadrach C, Birnbaum F, Maier PC, Reinhard T. [Corneal melting after cross-linking and deep lamellar keratoplasty in a keratoconus patient]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2008;225(1):96-8.
39. Ehlers N, Hjortdal J. Riboflavin-ultraviolet light induced cross-linking in endothelial decompensation. *Acta Ophthalmol* 2008;86(5):549-51.
40. El-Raggal TM. Sequential versus concurrent KERARINGS insertion and corneal collagen cross-linking for keratoconus. *Br J Ophthalmol* 2011; 95(1): 37–41.
41. Elstner E F. *Der Sauerstoff Biochemie, Biologie, Medizin.* Mannheim-Leipzig-Wien-Zürich,; 1990.

42. Emre S, Doganay S, Yologlu S. Evaluation of anterior segment parameters in keratoconic eyes measured with the Pentacam system. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 2007, vol.33, no.10, pp.1708-1712.
43. Epstein A.B.: *Keratoconus and Related Disorders*. New York:[s.n.],2000.87 s.URL <<http://www.northshorecontactlens.com/KeratoconusText.pdf>.
44. Ertan AK. Corneal crosslinking for different corneal diseases. *Cataract and Refractive Surgery Today Europe* April 2009;25-28.
45. Ertan A, Karacal H, Kamburog ̇ lu G. Refractive and topographic results of transepithelial cross-linking treatment in eyes with intacs. *Cornea* 2009; 28(7): 719–7.
46. Faschinger C, Kleinert R, Wedrich A. [Corneal melting in both eyes after simultaneous corneal cross-linking in a patient with keratoconus and Down syndrome]. *Ophthalmologe* 2010;107(10):951-2, 4-5.
47. Fatt I, Freeman RD, Lin D. Oxygen tension distributions in the cornea: a re-examination. *Exp. Eye Res.* 18, 357–365 (1974).
48. Filippello M, Stagni E, O’Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: bilateral study. *J Cataract Refract Surg* 2012; 38(2): 283–291.
49. Foote CS. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem. Photobiol.* 54, 659 (1991).
50. Fontes BM, Ambrosio R Jr, Alonso RS, et al. Corneal biomechanical metrics in eyes with refraction of – 19.00 to + 9.00 D in healthy Brazilian patients. *J Refract Surg.* 2008;24:941--945.
51. Fontes BM, Ambrosio R Jr, Jardim D, et al. Corneal biomechanical metrics and anterior segment parameters in mild keratoconus. *Ophthalmology.* 2010;117: 673–679.
52. Fowler CW, Dave TN. Review of past and present techniques of measuring corneal topography. *Ophthal Physiol Opt*, 1994;14 1:49-58.

53. Ghanem RC, Santhiago MR, Berti TB, Thomaz S, Netto MV (2010) Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A in eyes with pseudophakic bullous keratopathy. *J Cataract Refract Surg* 36:273–6.
54. Gokhale NS. Corneal endothelial damage after collagen cross-linking treatment. *Cornea* 2011;30(12):1495-8.
55. Gokhale NS, Vemuganti GK. Diclofenac-induced acute corneal melt after collagen crosslinking for keratoconus. *Cornea* 2010;29(1):117-9.
56. Goldich Y, Barkana Y, Morad Y, Hartstein M, Avni I, Zadok D. Can we measure corneal biomechanical changes after collagen cross-linking in eyes with keratoconus?--a pilot study. *Cornea* 2009;28(5):498-502.
57. Gordon MO, Steger-May K, Szczotka-Flynn L, Riley C, Joslin CE, Weissman BA et al. Baseline factors predictive of incident penetrating keratoplasty in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2006; 142(6): 923–930.
58. Gore DM, Shortt AJ, Allan BD. New clinical pathways for keratoconus *Eye* (2013) 27, 329–339.
59. Greenleaf JF, Fatemi M, Insana M. Selected methods for imaging elastic properties of biological tissues. *Ann. Rev. Biomed. Eng.* 2003;5:57–78.
60. Greenstein SA, Fry KL, Hersh PS. In vivo biomechanical changes after corneal collagen cross-linking for keratoconus and corneal ectasia: 1-year analysis of a randomized, controlled, clinical trial. *Cornea*. 2012;31:21-25.
61. Grewal DS, Brar GS, Jain R, Sood V, Singla M, Grewal SP. Corneal collagen crosslinking using riboflavin and ultraviolet-A light for keratoconus: one-year analysis using Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg* 2009;35(3):425-32.
62. Gupta D. Keratoconus: A clinical update. *Optometry Today* 15/07/2005. s.34,37.URL<http://www.otmagazine.co.uk/articles/docs/882ed4bcea848897cbb e928e8bd1b0c3_gupt_a20050715.pdf>.
63. Hafezi F, Iseli HP. Pregnancy-related exacerbation of iatrogenic keratectasia despite corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2008;34(7):1219-21.

64. Hafezi F, Kanellopoulos J, Wiltfang R, Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:203540.
65. Hafezi F, Mrochen M, Isele HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *J Cataract Refract Surg ASCRS and ESCRS* 2009; 35(4): 621–624.
66. Hassan Hashemi, MD; Mohammad Mirafteb, MD; Farhad Hafezi, MD, PhD; Soheila Asgari, Matched Comparison Study of Total and Partial Epithelium Removal in Corneal Cross-linking, [*J Refract Surg*. 2015;31(2):110-115.].
67. Hashemi H, Seyedian MA, Mirafteb M, Fotouhi A, Asgari S. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet A irradiation for keratoconus: long-term results. *Ophthalmology*.2013;120: 1515-1520.
68. He X, Spoerl E, Tang J, Liu J. Measurement of corneal changes after collagen crosslinking using a noninvasive ultrasound system. *J Cataract Refract Surg*;36(7):1207-12.
69. Hedbys BO, Mishima S (1966) The thickness-hydration relationship of the cornea. *Exp Eye Res* 5:221–8.
70. Herrmann CI, Hammer T, Duncker GI. [Hazeformation (corneal scarring) after cross-linking therapy in keratoconus]. *Ophthalmologie* 2008;105(5): 485-7.
71. Hersh PS, Greenstein SA, Fry KL. Corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: one-year results. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37(1): 149–160.
72. Hjortdal JO, Jensen PK (1995) In vitro measurement of corneal strain, thickness, and curvature using digital image processing. *Acta Ophthalmol Scand* 73:5–11 22.
73. Hjortdal JO (1995) Extensibility of the normo-hydrated human cornea. *Acta Ophthalmol Scand* 73:12–7.
74. Hon Y, Lam AK. Corneal deformation measurement using Scheimpflug noncontact tonometry, *Optometry and Vision*, 2013,vol.90, no.1, pp.21-28.

75. Hong J, Xu J, Wei A et al. A new tonometer - the Corvis ST tonometer: clinical comparison with noncontact and Goldmann applanation tonometers. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2013, vol. 54, no.1, pp. 659-666.
76. Hoyer A, Raiskup-Wolf F, Spörl E, Pillunat LE. Collagen cross-linking with riboflavin and UVA light in keratoconus. Results from Dresden. *Ophthalmologie* 2009;106(2):133-40. [Article in German].
77. Iseli HP, Thiel MA, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea* 2008;27(5):590-4.
78. Izquierdo L, Jr., Henriquez MA, McCarthy M. Artiflex phakic intraocular lens implantation after corneal collagen cross-linking in keratoconic eyes. *J Refract Surg* 2011;27(7):482-7.
79. Kagan HM, Trackman PC. Properties and function of lysyl oxidase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;5(3):206-10.
80. Kampik D, Ralla B, Keller S, Hirschberg M, Friedl P, Geerling G. Influence of corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-a irradiation on excimer laser surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*;51(8):3929-34.
81. Kanellopoulos AJ. Collagen cross-linking in early keratoconus with riboflavin in a femtosecond laser-created pocket: initial clinical results. *J. Refract. Surg.* 11, 1–4 (2009).
82. Kanellopoulos AJ, Asimellis G. Keratoconus management: long-term stability of topography-guided normalization combined with high-fluence CXL stabilization (the Athens Protocol). *J Refract Surg.* 2014;30:88-93.
83. Kanellopoulos AJ, Binder PS. Management of corneal ectasia after LASIK with combined, same-day, topography-guided partial transepithelial PRK and collagen cross-linking: the athens protocol. *J Refract Surg* 2011;27(5):323-31.
84. Kappmeyer K, Lanzl IM. [Intra-ocular pressure during and after playing high and low resistance wind instruments]. *Ophthalmologie* 2010;107(1):41-6.

85. Kara N, Altinkaynak H, Baz O, Goker Y, Biomechanical evaluation of cornea in topographically normal relatives of patients with keratoconus. *Cornea*, vol.32, no. 3 pp. 262-266.
86. Kato N, Toda I, Kawakita T, Sakai C, Tsubota K. Topography-guided conductive keratoplasty: treatment for advanced keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2010; 150(4): 481–489.
87. Kennedy C, Bastiaens MT, Bajdik CD, Willemze R, Westendorp RG, Bouwes Bavinck JN. Effect of smoking and sun on the aging skin. *J Invest Dermatol* 2003;120(4):548-54.
88. Khochtali S, Colin J, Touboul D, Binder PS. Does photorefractive keratectomy affect keratoconus progression. *J Refract Surg* 2010;26(12): 925-6.
89. Kissner A, Spoerl E, Jung R, Spekl K, Pillunat LE, Raiskup F. Pharmacological modification of the epithelial permeability by benzalkonium chloride in UVA/Riboflavin corneal collagen cross-linking. *Curr Eye Res* 2010;35(8):715-21.
90. Kohnen T. Riboflavin-UVA corneal collagen crosslinking as an evolving surgical procedure for progressive ophthalmic tissue diseases. *J Cataract Refract Surg* 2008;34(4):527.
91. Kohlhaas M, Spoerl E, Schilde T, Unger G, Wittig C, Pillunat LE. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(2): 279-283.
92. Koller T, Iseli HP, Hafezi F, Vinciguerra P, Seiler T. Scheimpflug imaging of corneas after collagen cross-linking. *Cornea* 2009;28(5):510-5.
93. Koller T, Mrochen M, Seiler T. Complication and failure rates after corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2009;35(8):1358-62.
94. Koller T, Pajic B, Vinciguerra P, Seiler T. Flattening of the cornea after collagen crosslinking for keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(8):1488-1492.

95. Kovács I, Miháitz K, Németh J, Nagy ZZ. Anterior chamber characteristics of keratoconus assessed by rotating Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(7):1101-1106.
96. Kránitz, Kinga; Kovács, Illés; Miháitz, Kata; Sándor, Gábor László; Juhász, Éva; et al. Changes of Corneal Topography Indices After CXL in Progressive Keratoconus Assessed by Scheimpflug Camera, *Journal of Refractive Surgery* 30.6 (Jun 2014): 374-378.
97. Krulová M, Pokorná K, Lenčová A, Zajícová A, Frič J, Filipec M, Forrester JV, Holáň V. A rapid separation of two distinct populations of corneal epithelial cells with limbal stem cell characteristics in the mouse. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 49, 3903-3908, 2008.
98. Krueger RR, Ramos-Esteban JC, Kanellopoulos AJ. Staged intrastromal delivery of riboflavin with UVA cross-linking in advanced bullous keratopathy: laboratory investigation and first clinical case. *J Refract Surg* 2008;24(7):S730-6.
99. Kuo IC, Broman A, Pirouzmanesh A, Melia M. Is there an association between diabetes and keratoconus? *Ophthalmology* 2006;113(2):184-90.
100. Kwan M, Niinikoski J, Hunt TK. In vivo measurements of oxygen tension in the cornea, aqueous humor, and anterior lens of the open eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 11, 108–114 (1972).
101. Kymionis GD, Bouzoukis DI, Diakonis VF, Portaliou DM, Pallikaris AI, Yoo SH. Diffuse lamellar keratitis after corneal crosslinking in a patient with post-laser in situ keratomileusis corneal ectasia. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(12):2135-7.
102. Kymionis GD, Grentzelos MA, Kounis GA, Diakonis VF, Lim-nopoulou AN, Panagopoulou SI. Combined transepithelial phototherapeutic keratectomy and corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus. *Ophthalmology*. 2012;119:1777- 1784.
103. Kymionis GD, Karavitaki AE, Kounis GA, Portaliou DM, Yoo SH, Pallikaris IG. Management of pellucid marginal corneal degeneration with simultaneous customized photorefractive keratectomy and collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2009;35(7):1298-301.

104. Kymionis G, Portaliou D. Corneal crosslinking with riboflavin and UVA for the treatment of keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(7):1143-4. author reply 1144.
105. Kymionis GD, Portaliou DM, Bouzoukis DI, et al. Herpetic keratitis with iritis after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A for keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(11):1982-4.
106. Kymionis GD, Portaliou DM, Diakonis VF, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA. Corneal Collagen Cross-linking With Riboflavin and Ultraviolet-A Irradiation in Patients With Thin Corneas. *Am J Ophthalmol* 2012;153(1):24-8.
107. Kymionis GD, Siganos CS, Tsiklis NS, Anastasakis A, Yoo SH, Pallikaris AI, et al. Long-term follow-up of Intacs in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2007;143(2):236-244.
108. Labiris G, Kaloghianni E, Koukoula S, Zissimopoulos A, Kozobolis VP. Corneal melting after collagen cross-linking for keratoconus: a case report. *J Med Case Reports*;5:152.
109. Lanchares E, Del Buey MA, Cristobal JA, Lavilla L, Calvo B. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*.
110. Leccisotti A, Islam T. Transepithelial corneal collagen cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg*;26(12):942-8.
111. Li X, Rabinowitz YS, Tang YG, et al. Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(9):3791-5.
112. Luce DA. Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an ocular response analyzer. *J Refract Surg*.2005;31:156-162.
113. Mackiewicz Z, Maatta M, Stenman M, Konttinen L, Tervo T, Konttinen YT. Collagenolytic proteinases in keratoconus. *Cornea* 2006;25(5):603-10.
114. Madhukumar E, Vijayammal PL. Influence of cigarette smoke on cross-linking of dermal collagen. *Indian J Exp Biol* 1997;35(5):483-6.

115. Maeda N, Klyce SD, Smolek MK, et al. Automated keratoconus screening with corneal topography analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35: 9-2757.
116. Maeno A, Naor J, Lee HM, Hunter WS, Rootman DS. Three decades of corneal transplantation: indications and patient characteristics. *Cornea* 2000;19(1):711.
117. Matthew S, Bill W, Alexander G. Illumination system for corneal collagen crosslinking. *Optometry and vision science* 2011;88(4):512-524.
118. Mazen M. Sinjab, *Corneal Topography in Clinical Practice (Pentacam system) – Basics and Clinical Interpretation*, 2012, ISBN:978-93-5025-575-9, str.97.
119. Mazen M. Sinjab. *Corneal Topography in Clinical Practice (Pentacam System) Basics and Clinical interpretation*. 2012, 978-93-5025-575-9;116.
120. Mazzotta C, Caporossi T, Denaro R, et al. Morphological and functional correlations in riboflavin UV A corneal collagen cross-linking for keratoconus. *Acta Ophthalmol.* 2010 Apr. 23; Epub ahead of print.
121. Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S, Traversi C, Caporossi A. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35(6):580-2.
122. 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(4):390-397.
123. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, et al. Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen cross-linking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. *Am J Ophthalmol* 2008;146(4):527-33.
124. McCall AS, Kraft S, Edelhauser HF et al. Mechanisms of corneal tissue cross-linking in response to treatment with topical riboflavin and long wavelength ultraviolet radiation (UVA). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51(1), 129–138 (2010).

125. McLaren JW, Dinslage S, Dillon JP, Roberts JE, Brubaker RF. Measuring oxygen tension in the anterior chamber of rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 39, 1899–1909 (1998).
126. McMahon TT, Edrington TB, Szczotka-Flynn L, Olafsson HE, Davis LJ, Schechtman KB et al. Longitudinal changes in corneal curvature in keratoconus. *Cornea* 2006; 25(3): 296–305.
127. Meek KM, Tuft SJ, Huang Y, Gill PS, Hayes S, Newton RH, et al. Changes in collagen orientation and distribution in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(6):1948-56.
128. Mencucci R, Mazzotta C, Rossi F, et al. Riboflavin and ultraviolet A collagen crosslinking: in vivo thermographic analysis of the corneal surface. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(6):1005-8.
129. Mencucci R, Marini M, Paladini I, Sarchielli E, Sgambati E, Menchini U, Vannelli GB (2010) Effects of riboflavin/UVA corneal cross-linking on keratocytes and collagen fibres in human cornea. *Clin Exp Ophthalmol* 38: 49–56.
130. Morita A. Tobacco smoke causes premature skin aging. *J Dermatol Sci* 2007;48(3):169-75.
131. O’Brart DPS, Chan E, Samaras K, Patel P, Shah SP. A randomised, prospective study to investigate the efficacy of riboflavin/ultraviolet A (370 nm) corneal collagen cross- linkage to halt the progression of keratoconus. *Br J Ophthalmol* 2011; 95(11): 1519–1524.
132. O’Brart D, Patel P, Lascaratos G, Wagh VK, Tam C, Lee J, O’Brart N: Corneal cross-linking to halt the progression of keratoconus and corneal ectasia: Seven year follow-up; *American Journal of Ophthalmology* (2015), doi: 10.1016/j.ajo.2015.08.023.
133. O’Brart D , Petrarca R. Keratoconus – Part 1. *Optician*, October 27, 2006a.No 6075, Vol 232. s.26 – 31.
URL<<http://www.opticianonline.net/assets/getAssets.aspx?ItemID=2103>>

134. O'Brart D, Petrarca R. Keratoconus – Part 2.[online] Optician, November,2006b.No 6076, Vol 232 [cit. 25.12.2008].
URL<<http://www.opticianonline.net/Articles/2006/11/3/17484/Keratoconus+-+Part+2+%28C5080%29.html>>
135. Ophir J, Cespedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X. Elastography—a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason. Imaging.* 1991;13:111–134.
136. Örnek K, Yalçındağ FN, Özdemir Ö. Corneal melting associated with a fixed-dose combination of diclofenac 0.1% plus tobramycin 0.3% following cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2008;34:1417.
137. Ortiz D, Pinero D, Shabayek MH, et al. Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:1371–1375.
138. Ozbek Z, Cohen EJ. Use of intralimbal rigid gas-permeable lenses for pellucid marginal degeneration, keratoconus, and after penetrating keratoplasty. *Eye Contact Lens* 2006; 32(1): 33–36.
139. Paik DC, Wen Q, Braunstein RE, Airiani S, Trokel SL. Initial studies using aliphatic b-nitro alcohols for therapeutic corneal cross-linking. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 50, 1098–1105 (2009).
140. Paik DC, Wen Q, Braunstein RE, Trokel SL. Short chain aliphatic b-nitro alcohols for corneoscleral cross-linking: corneal endothelial toxicity studies. *J. Refract. Surg.* 24, S741–S747 (2008).
141. Pecego M, Barnett M, Mannis MJ, Durbin-Johnson B. Jupiter scleral lenses: the UC Davis Eye Center experience. *Eye Contact Lens* 2012; 38(3): 179–182.
142. Pepose JS, Feigenbaum SK, Qazi MA, Sanderson JP, Roberts CJ. Changes in corneal biomechanics and intraocular pressure following Lasik using static, dynamic, and noncontact tonometry. *American Journal of Ophthalmology*, vol. 143, no.1 pp. 39-47, 2007.
143. Pesando PM, Ghiringhello MP, Di Meglio G, Fanton G. Posterior chamber phakic intraocular lens (ICL) for hyperopia: ten-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33(9): 1579–1584.

144. Poli M, Cornut PL, Balmitgere T, Aptel F, Janin H, Burillon C. Prospective study of corneal collagen cross-linking efficacy and tolerance in the treatment of keratoconus and corneal ectasia: 3-year results. *Cornea*. 2013;32:583-590.
145. Pramanik S, Musch DC, Sutphin JE, Farjo AA. Extended long-term outcomes of penetrating keratoplasty for keratoconus. *Ophthalmology* 2006;113(9):1633-8.
146. Raiskup F, Hillen M. Corneal cross-linking can halt the progression of keratoconus, but what is the best approach to treatment? *Int J Kerat Ect Cor Dis* 2015. In Press, Raiskup F. Epi-On or Epi-Off? The Ophthalmologist. Texere Publishing Limited, March 2015
147. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg* 2009;25(9):S824-8.
148. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg* 2008;34(5):796801.
149. Raiskup F, Kissner A, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. [Corneal scar development after cross-linking in keratoconus]. *Ophthalmologie* 2011;107(9):837-42.
150. Raiskup F, Kissner A, Spoerl E, Pillunat LE. [Corneal cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution for keratoconus with thin corneas]. *Ophthalmologie* 2011; 108(9): 846–851.
151. Raiskup F, Pinelli R, Spoerl E. Riboflavin osmolar modification for transepithelial corneal cross-linking. *Curr Eye Res* 2012. In print.
152. Raiskup F, Spoerl E. Corneal Cross-linking with Hypo-osmolar Riboflavin Solution in Thin Keratoconic Corneas. *Am J Ophthalmol*.
153. Raiskup F, Theuring A, Pillunat LE, Spoerl E: Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus: Ten-year results. *J Cataract Refract Surg* 2015; 41:41–46

154. Randleman JB. Post-laser in-situ keratomileusis ectasia: current understanding and future directions. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17(4): 406-12.
155. Rechichi M, Daya S, Scorgia V, Meduri A, Scorgia G. Epithelial- disruption collagen crosslinking for keratoconus: one-year re- sults. *J Cataract Refract Surg.* 2013;39:1171-1178.
156. Reeves SW, Stinnett S, Adelman RA, Afshari NA. Risk factors for progression to penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2005;140(4):607-11.
157. Robert L, Schillinger G, Moczar M, Junqua S, Moczar E. II. Étude biochimique du k ratoc ne. *Arch. Ophtalmol.* 30, 590–607 (1970).
158. Rocha KM, Ramos-Esteban JC, Qian Y, Herekar S, Krueger RR. Comparative study of riboflavin-UVA cross-linking and "flash-linking" using surface wave elastometry. *J Refract Surg* 2008;24(7):S748-51.
159. Saad A, Lteif Y, Azan E, Gatinel D. Biomechanical properties of keratoconus suspect eyes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2010, vol.51, no.6, pp.2912-2916.
160. Sady C, Khosrof S, Nagaraj R. Advanced Maillard reaction and crosslinking of corneal collagen in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214(3):7937.
161. Saelens IEY, Bartels MC, Bleyen I, Van Rij G. Refractive, topographic, and visual outcomes of same-day corneal cross-linking with ferrara intracorneal ring segments in patients with progressive keratoconus. *Cornea* 2011; 30(12): 1406–1408.
162. Saffarian L, Khakshoor H, Zarei-Ghanavati M, Esmaily H. Cor- neal crosslinking for keratoconus in Iranian patients: outcomes at 1 year following treatment. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2010;17:365-368.
163. Samaras K, O'brart DP, Douth J, Hayes S, Marshall J, Meek KM. Effect of epithelial retention and removal on riboflavin absorption in porcine corneas. *J. Refract. Surg.* 25, 771–775 (2009).

164. Sandvik GF, Thorsrud A, Råen M, Østern AE, Sæthre M, Drolsum L: Does Corneal Collagen Cross-linking Reduce the Need for Keratoplasties in Patients With Keratoconus? Received for publication February 17, 2015; revision received March 9, 2015; accepted March 13, 2015. *Cornea* 2015;0:1–5.
165. Sawagamuchi S, Twinning S, Yue B. Alpha 2 macroglobulin levels in normal human and keratokonous corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:4008-4014.
166. Scarcelli G, Pineda R, Yun SH. Brillouin optical microscopy for corneal biomechanics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012.
167. Shah S, Laiquzzaman M, Bhojwani R, Mantry S, Cunliffe I. Assessment of the biomechanical properties of the cornea with the ocular response analyzer in normal and keratoconic eyes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2007, vol.48, no.7 à, pp.3026-3031.
168. Shah S, Laiquzzaman M, Yeung I, et al. The use of the ocular response analyser to determine corneal hysteresis in eyes before and after excimer laser refractive surgery. *Cont Lens Anterior Eye.* 2009;32:123–128.
169. Shah S, Laiquzzaman M. Comparison of corneal biomechanics in pre and post- refractive surgery and keratoconic eyes by ocular response analyser. *Cont Lens Anterior Eye.* 2009;32:129–132. [quiz 51].
170. Schilde T, Kohlhaas M, Spoerl E, Pillunat LE. [Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas]. *Ophthalmologie* 2008;105(2):165-9.
171. Schumacher S, Mrochen M, Wernli J, Bueeler M, Seiler T. Optimization Model for UV-Riboflavin Corneal Cross-linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*
172. Sedaghat M, Naderi M, Zarei-Ghanavati M. Biomechanical parameters of the cornea after collagen crosslinking measured by waveform analysis. *J Cataract Refract Surg*;36(10):1728-31.
173. Seiler T, Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line. *Cornea* 2006;25(9):1057-9.

174. Seiler T, Huhle S, Spoerl E, Kunath H. Manifest diabetes and keratoconus: a retrospective case-control study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000;238(10):822-5.
175. Seppala HP, Maatta M, Rautia M, et al. EMMPRIN and MMP-1 in keratoconus. *Cornea* 2006;25(3):325-30.
176. Smiddy WE, Hamburg TR, Kracheaar GP, Stark WJ. Keratoconus. Contact lens or keratoplasty? *Ophthalmology* 1988;95(4):487-92.
177. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 1998;66(1):97-103.
178. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea* 2007;26(4):385-9.
179. Spoerl E, Seiler T. Techniques for stiffening the cornea. *J Refract Surg* 1999;15(6):711-3.
180. Spoerl E, Terai N, Scholz F, Raiskup F, Pillunat LE. Detection of biomechanical changes after corneal cross-linking using Ocular Response Analyzer software. *J Refract Surg* 2011;27(6):452-7.
181. Spörl E, Terai N, Haustein M, Böhm AG, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE. [Biomechanical condition of the cornea as a new indicator for pathological and structural changes]. *Ophthalmologe* 2009;106(6):512-20.
182. Spoerl E, Wollensak G, Dittert DD, Seiler T. Thermomechanical behavior of collagen-cross-linked porcine cornea. *Ophthalmologica* 2004;218(2):136-40.
183. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res* 2004;29(1):35-40.
184. Spoerl E, Zubaty V, Terai N, Pillunat LE, Raiskup F. Influence of high-dose cortisol on the biomechanics of incubated porcine corneal strips. *J Refract Surg* 2009;25(9):S794-8.
185. Spoerl E, Raiskup F, Kampik D, Geerling G. Correlation between UV absorption and riboflavin concentration in different depths of the cornea in CXL. *Curr Eye Res* 2010;35(11):1040-1; author reply 2-3.

186. Spoerl E, Zubaty V, Terai N, Pillunat LE, Raiskup F. Influence of high-dose cortisol on the biomechanics of incubated porcine corneal strips. *J Refract Surg* 2009;25(9):S794-8.
187. Stewart JM, Schultz DS, Lee OT, Trinidad ML. Collagen cross-links reduce corneal permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(4):1606-12.
188. Stewart JM, Schultz DS, Lee OT, Trinidad ML. Exogenous collagen cross-linking reduces scleral permeability: modeling the effects of age-related cross-link accumulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(1):352-7.
189. Stojanovic A, Chen X, Jin N, Zhang T, Stojanovic F, Raeder S et al. Safety and efficacy of epithelium-on corneal collagen cross-linking using a multifactorial approach to achieve proper stromal riboflavin saturation. *J Ophthalmol* 2012; 2012: 1–8.
190. Trattler W. Corneal Crosslinking for Keratoconus and LASIK Complications. <http://www.allaboutvision.com/conditions/corneal-crosslinking.htm>.
191. Vicente LL, Boxer Wachler BS. Factors that correlate with improvement in vision after combined Intacs and trans-epithelial corneal crosslinking. *Br J Ophthalmol* 2010;94(12):1597-601.
192. Tanter M, Touboul D, Gennisson JL, Bercoff J, Fink M. High-resolution quantitative imaging of cornea elasticity using supersonic shear imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 2009;28(12):1881-93.
193. Tuft SJ, Moodaley LC, Gregory WM, Davison CR, Buckley RJ. Prognostic factors for the progression of keratoconus. *Ophthalmology* 1994; 101(3): 439–447.
194. Uzawa K, Marshall MK, Katz EP, Tanzawa H, Yeowell HN, Yamauchi M. Altered posttranslational modifications of collagen in keloid. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;249(3):652-5.
195. Wachler BB, Chan CKC. Holcomb C3-R for Stabilization of Progressive Hyperopia after Radial Keratotomy and Laser Ablation. Presented at the American Academy of Ophthalmology Annual Meeting, 2006.

196. Waheeda I. Keratokonus:Diagnosis,contact lens fitting and management.(OT CET?),August 18,2006
URL<<http://www.optometry.co.uk/articles/docs/c41e93e6a994a08fd7c816bz64e872b81> CET Au 18.pdf.
197. Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, McDowall A, Vital M, Chwang E. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis.Hypothesized role for the interleukin 1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing.Exp Eye res. 1996;62:325-337.
198. Vinciguerra P, Albe E, Frueh BE, Trazza S, Epstein D. Two-year corneal cross-linking results in patients younger than 18 years with documented progressive keratoconus. AJOPHT 2012; 23: 1–7.
199. Vinciguerra P, Albè E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, Epstein D (2009) Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. Ophthalmology 116:369–78.
200. Vinciguerra P, Camesasca FI, Romano MR. Corneal crosslinking and lens opacity. Ophthalmology 2011;118(12):2519 e1-2.
201. Vinciguerra P, Camesasca FI, Albé E, Trazza S. Corneal collagen cross-linking for ectasia after excimer laser refractive surgery: 1-year results. J. Refract. Surg. 2, 1–12 (2009).
202. Vinciguerra P, Albé E, Trazza S, Seiler T, Epstein D. Intraoperative and postoperative effects of corneal collagen cross-linking on progressive keratoconus. Arch. Ophthalmol. 127, 1258–1265 (2009).
203. Wittig-Silva CH, Chan E, Islam Fakir MA, Wu T, Whiting M, Snibson Grant R: A Randomized, Controlled Trial of Corneal Collagen Cross-Linking in Progressive Keratoconus; Three-Year Results. Ophthalmology 2014;121:812-821 a 2014 by the American Academy of Ophthalmology.
204. Wittig-Silva C, Whiting M, Lamoureux E, Lindsay RG, Sullivan LJ, Snibson GR. A randomized controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: preliminary results. J Refract Surg 2008; 24(7): S720–S725.

205. Wollensak. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17(4):356-60.

206. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. *J. Cataract Refract. Surg.* 36, 114–120 (2010).

207. Wollensak G, Aurich H, Pham DT, Wirbelauer C. Hydration behavior of porcine cornea crosslinked with riboflavin and ultraviolet A. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(3):516-21.

208. Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg* 2009;35(3):540-6.

209. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Pillunat L, Funk R. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res* 2003; 35(6): 324–328.

210. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye* 2004;18(7):718-22.

211. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a- induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003; 135(5): 620–627.

212. 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(9):1780-5.

213. Wollensak G, Spoerl E, Mazzotta C, Kalinski T, Sel S. Interlamellar cohesion after corneal crosslinking using riboflavin and ultraviolet A light. *Br J Ophthalmol*;95(6):876-80.

214. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg* 2003;29(9):1786-90.

215. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. *Cornea* 2004;23(5):503-7.
216. Yuksel N, Bilgihan K, Hondur AM. Herpetic keratitis after corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A for progressive keratoconus: a case report *Int Ophthalmol* (2011) 31:513–515 DOI 10.1007/s10792-011-9489-x.
217. Zamora KV, Males JJ. Polymicrobial keratitis after a collagen cross-linking procedure with postoperative use of a contact lens: a case report. *Cornea* 2009;28(4):474-6.
218. Zhang Y, Conrad AH, Conrad GW. Effects of ultraviolet-A and riboflavin on the interaction of collagen and proteoglycans during corneal cross-linking. *J Biol Chem*;286(15):13011-22.

PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

1. Raiskup F., **Veselá M.**: "Hornhautvernetzung beim Keratokonus: "Epi-off" oder "Epi-on"?" *Klinischen Monatsblättern für Augenheilkunde*. (19.5. 2015 potvrzení o přijetí do tisku) IF 0,665
2. **Veselá M.**, Baráková D., Lenčová A.: Analýza příčin explantace nitroočních čoček. *Čes. a slov. Oftal.*, 69, 2013, No. 4, p. 170-173
3. **Kalafusová M.**, Augustinský B.: Syndrom suchého oka u pacientů s diabetes mellitus II. Typu, *Syndrom suchého oka*, Bausch and Lomb, 2007, str. 23-26
4. Augustinský B., **Kalafusová M.**: Triple Procedure: trabekulektomie a fakoemulzifikací a implantací IOL. *Transacta Ophthalmologica Slovaca*, číslo 1, 2004, ročník 4, ISSN 1335-8955, str. 72 – 78
5. **Veselá M.**: Syndrom suchého oka u pacientů se Sjogrenovým syndromem. <http://www.systane.cz/Sjogrens-Disease.aspx>

ODBORNÉ PŘEDNÁŠKY A PLAKÁTOVÁ SDĚLENÍ

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Triple procedure – trabekulektomie s fakoemulzifikací a implantací IOL.; 3.mezinárodní kongres ČSRKCH, Praha, ČR, květen 2005.

Augustínský, B. - **Kalafusová, M.**: Primární PCCCI u operace adnatní katarakty. Kongres Slovenské oftalmologické společnosti, Nitra, SR, květen, 2005.

Kalafusová, M. Augustínský, B: Poškození nitrooční cocky během impantace IOL. Kongres Slovenské oftalmologické společnosti, Nitra, SR, květen, 2005.

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Katarakta a pseudoexfoliace, Glaukom, Varia, Kongres Slovenské oftalmologické společnosti, Žilina, SR, duben 2006.

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Diabetes mellitus a suché oko, 12. Výroční kongres SOS, Košice, SR, září 2006.

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Visthesia – 2 in 1 - naše první zkušenosti. Kongres SRKCH a SOS Sekce kataraktové a refrakční chirurgie a implantologie , Bratislava, SR, říjen 2006.

Kalafusová, M.: Suché oko - Tematický kurz– Aktuální problémy v oftalmologii SZU, Bratislava, SR, prosinec 2006.

Kalafusová, M.: Corneal Hystheresis – Biomechanické vlastnosti rohovky a jejich aplikace v praxi, celostátní kongres SOS, Banská Bystrica, SR, září 2007.

Kalafusová, M.: Hyperosmolaritaslního filmu u pacientů s DM II typu. celostátní kongres SOS, Banská Bystrica, SR, září 2007.

Kalafusová, M.: Oboustranná slepota – začátek konce. Zlínský oční festival, Academia center od University T.Bati, Zlín, ČR, březen 2008

Kalafusová, M.: LASIK femtosekundovým laserem. 14 výroční kongres SOS, Poprad, SR, květen 2008,

Kalafusová, M.: Rohovková topografie přístrojem Pentacam14 výroční kongres SOS, Poprad, SR, květen 2008,

Kalafusová, M.: IOL calculation in patients after previous LASIK - Work Scientific Days of Slovak Ophthalmologic Association, Zvolen, SR , October,2008,

Kalafusová, M.: Naše zkušenosti s HPMC Eye visc - 7. mezinárodní kongres ČSRKCH, Ostrava, ČR, květen 2009

Kalafusová, M.: CXL – roční sledovací doba. 7. mezinárodní kongres ČSRKCH, Ostrava, ČR, květen 2009

Kalafusová, M.: News – Arteficial Tears Systane Ultra, Certificate of Attendance, 2nd Corneal Congress,Prague, Czech Republic,

Kalafusová, M.: Acrysof Restor – pořád něco nového...15 výroční kongres SOS, Žilina, SR, 2010

Kalafusová, M.: Rozvinutý keratokonus u pacientky s karotido-kavernózní fistulí – roční sledovací doba. 15 výroční kongres SOS, Žilina, SR, 2010

Kalafusová, M.: Starostlivost o pacienty po implantaci multifokální čočky. 3. Oftalmologické symposium, Praha, ČR 2011

Kalafusová M., Stodulka P.: Kalkulace nitrooční čočky po laserové refrakční chirurgii 3. Oftalmologické symposium, Praha, ČR 2011

Kalafusová M., Baráková D., Smažinková R.: Změna refrakce po Nd:YAG laser kapsulotomii u pacientů s multifokální čočkou. Mezinárodní kongres České a slovenské refrakční a kataraktové chirurgie, Ostrava, 2011

Veselá M., Baráková D., Lenčová A.: Analýza příčin vedoucích k explantaci nitroočních čoček. Mezinárodní kongres České a slovenské refrakční a kataraktové chirurgie, Ostrava, 2011

Veselá M.: Corneal-cross-linking: hodnocení parametrů před a po operaci, seminář, Hradec Králové, říjen 2011,

Veselá M., Baráková D., Bujalková D., Garajová D.: Analýza příčin rotace torických nitroočních čoček, Celostátní kongres české a slovenské refrakční a kataraktové chirurgie, Ostrava, květen 2012,

Veselá M., Baráková D., Bujalková D., Garajová D.: Vliv rotace torické multifokální čočky na kvalitu vidění a neuroadaptaci, Celostátní sjezd české oftalmologické společnosti, Plzeň, září, 2012

Veselá M.: Syndrom suchého oka. Celostátní sjezd optometristů, Nymburk, listopad 2012

Veselá M.: Keratokonus, Refrakční oftalmologický seminář, Praha, březen, 2015

Veselá M.: Cross-linking kolagenu rohovky, Refrakční oftalmologický seminář, Praha, březen, 2015

PLAKÁTOVÁ SDĚLENÍ

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Triple procedure – trabeculectomy, phacoemulsification and IOL implantation; Poster presentation in Courses in Continuing Medical Education for Attending the World Glaucoma Congress, Vienna, Austria

Kalafusová, M. - Augustínský, B.: Triple procedure – trabeculectomy, phacoemulsification and IOL implantation; Poster presentation in 6th Glaucoma Symposium, the European Accreditation Council for Continuing Medical Education, Athens, Greece, March, 2007,

Kalafusová, M. - Hyperosmolarity of tear film in patients with DM II type, Poster - WOC Hong Kong, Czech and Slovak Republic, June, 2008.

(World Ophthalmology Congress,XXXI International Congress of Ophthalmology ,XXIII Congress of Asia Pacific Academy of Ophthalmology, XIII Congress of Chinese Ophthalmological Society, XX Hong Kong Ophthalmological Symposium,Hong Kong, JUNE, 2008)