

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Martina Veselá, FEBO

2015

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

**Doktorský studijní program
Oční lékařství**

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

**THE TREATMENT MODIFICATION OF PROGRESSIVE KERATOCONUS
USING THE CORNEAL COLLAGEN CROSS-LINKING WITH RIBOFLAVIN
AND UVA IRRADIATION**

MUDr. Martina Veselá, FEBO

Školitel: Doc. MUDr. Frederik Raiskup, Ph.D., FEBO

Hradec Králové, 2015

Obhajoba dne:

Prohlášení

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Hradec Králové, 2015

MUDr. Martina Veselá, FEBO

Poděkování

Ráda bych poděkovala panu Prof. MUDr. Pavlovi Rozsivalovi, CSc., FEBO, přednostovi Oční kliniky Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové za možnost studovat na jeho klinice, za vstřícnost a odborné konzultace. Děkuji panu doc. MUDr. Frederikovi Raiskupovi, Ph.D, FEBO za jeho odborné vedení při studiu, kolegiální a odborné konzultace, děkuji Oční klinice Lexum za možnost vypracovat odbornou práci a panu Ivanu Kolínovi za odborné fotografie. Mé poděkování patří i paní RNDr. Evě Čermákové za spolupráci a pomoc se statistickým hodnocením dat.

OBSAH

| | |
|---|----|
| Prohlášení autora | 3 |
| Poděkování | 4 |
| Obsah | 5 |
| Použité zkratky | 8 |
| ÚVOD | 10 |
| KERATOKONUS | 10 |
| Etiopatogeneze keratokonu | 10 |
| Morfopatologie keratokonické rohovky | 12 |
| Klinické příznaky keratokonu | 13 |
| Rohovkové ztenčení | 13 |
| Munsonův znak | 13 |
| Fleischerův prstenec | 13 |
| Bowmanův stín | 13 |
| Vogtovy strie | 13 |
| Viditelné rohovkové nervy | 13 |
| Endoteliální pohárový reflex | 14 |
| Axenfeldův znak | 14 |
| Rizzutiho znak | 14 |
| Akutní hydrops | 14 |
| Klasifikace keratokonu | 14 |
| Časové období vzniku keratokonu | 16 |
| Diagnostika keratokonu | 16 |
| Vyšetření štěrbinovou lampou | 16 |
| Keratometrie | 17 |
| Keratoskopie rohovky | 17 |
| Topografické techniky | 17 |
| Biomechanika rohovky | 18 |

| | |
|---|----|
| DIAGNOSTIKA EKTAZIE PŘÍSTROJEM PENTACAM | 19 |
| Frustrní forma keratokonu | 19 |
| Topografické kritéria keratokonu | 21 |
| CROSS-LINKING KOLAGENU ROHOVKY | 22 |
| Verifikace historie CXL v literatuře | 23 |
| Indikace k CXL | 25 |
| Princip metody CXL | 26 |
| Standardní technika CXL | 27 |
| CXL u tenké rohovky | 28 |
| Modifikace standardního provedení CXL | 29 |
| Základní účinky CXL | 31 |
| Ultrastrukturální změny v rohovce po CXL | 31 |
| Zobrazení rohovkových změn po CXL | 33 |
| Zobrazení Scheimpflugovou kamerou | 33 |
| Ocular Response Analyzer | 34 |
| Konfokální mikroskopie | 34 |
| Ultrazvuková elastografie | 35 |
| Autofluorescence | 35 |
| Měření nitroočního tlaku u keratokonu po CXL | 35 |
| | |
| MANAGEMENT KERATOKONU | 36 |
| Stabilizace tvaru rohovky | 36 |
| Progrese keratokonu | 36 |
| Standardní CXL, „epitel-off“ | 37 |
| Transepiteliální CXL, C3-R, „epitel-on“ | 38 |
| „Epitel-on“ versus „epitel-off“ | 39 |
| Rehabilitace zrakové ostrosti | 39 |
| Kontaktní čočky | 39 |
| CXL a refrakční chirurgie | 40 |
| Laserová povrchová ablace, PRK | 41 |
| Intrastromální prstencové segmenty | 42 |
| Termální keratoplastika | 44 |
| Fakická nitrooční čočka | 44 |

| | |
|---|-----|
| Komplikace CXL | 45 |
| Haze a jizvení | 45 |
| Keratitis | 46 |
| Keratolýza a perforace rohovky | 47 |
| Denzita endoteliálních buněk | 48 |
| | |
| CÍL PRÁCE | 49 |
| | |
| METODIKA | 50 |
| Soubor pacientů | 50 |
| Anamnéza | 52 |
| Indikační kritéria k provedení CXL | 53 |
| Přístrojová měření | 55 |
| Klinická vyšetření | 57 |
| Provedení CXL | 59 |
| CXL s odstraněním rohovkového epitelu u rohovky >400 μm | 59 |
| CXL s odstraněním rohovkového epitelu u rohovky <400 μm | 63 |
| Sledované parametry a statistická analýza dat | 63 |
| | |
| VÝSLEDKY | 64 |
| DISKUZE | 121 |
| Hojení epitelu, bolestivost | 125 |
| Korneální zkalení a jizvení | 126 |
| Počet endoteliálních buněk | 128 |
| Zraková ostrost | 130 |
| CCT, biomechanika, hydratace a objem rohovky | 134 |
| Elevační změny předního, zadního povrchu, K_{max} , „push-up“ efekt po CXL | 137 |
| Korelace topografických výsledků Keratograph/Pentacam | 143 |
| Objektivní potvrzení účinků CXL | 144 |
| | |
| ZÁVĚR | 145 |
| LITERATURA | 147 |

POUŽITÉ SKRATKY

| | |
|-----------|---|
| Asti | Korneální astigmatismus v centru rohovky |
| Ax,Axis | Osa rohovkového astigmatismu |
| BAC | Benzalkoniumchlorid |
| BCVA | Best Corrected Visual Acuity |
| BFS | Best fit sphere, režim koule |
| BFTE | Best fit toric ellipsoid, režim torický elipsoid |
| CCT | Central corneal thickness, centrální tloušťka rohovky |
| CH | Corneal hysteresis, rohovková hysteréze |
| CRF | Corneal resistance factor, faktor odporu rohovky |
| CXL | Corneal Cross-Linking |
| D | Dioptrie |
| DALK | Deep Anterior Lamellar Keratoplasty |
| Dcyl | Cylindrická dioptrie |
| DLK | Difúzní lamelární keratitida |
| DM | Descemetova membrána |
| EB | Elevation back, elevace zadní plochy |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetate |
| EF | Elevation Front, elevace přední plochy |
| FDA | US Food and Drug Administration |
| FFKC | Forme Fruste KC, frustní forma keratokonu |
| HSV | Herpes Simplex Virus |
| ICL | Implantable Collamer Lens |
| ICRS | Intrastromal Corneal Ring Segments, |
| IL | Interleukin |
| IOL | Intraocular Lens, nitrooční čočka |
| IOP | Intraocular Pressure, nitrooční tlak |
| IS | Inferior-superiorní rozdíl |
| K | Keratometrie |
| K_{max} | Maximální simulované keratometrické hodnoty |
| LASIK | Laser-assisted In Situ Keratomileusis |
| LogMAR | Logarithmus of the Minimum Angle of Resolution |
| mm | Milimetr |

| | |
|--------------------|---|
| mW/cm ² | Milivat na centimetr čtvereční |
| μm | Mikrometr |
| nm | Nanometr |
| NSAID | Nesteroidní antiflogistika |
| OCT | Optická koherentní tomografie |
| ORA | Ocular response analyser |
| PED | Perrzistující epiteliální defekt |
| PRK | Photorefractive keratectomy, fotorefrakční keratektomie |
| RGP | Rigid Gas Permeable, Tvrdé plynopropustné kontaktní čočky |
| SCF | Sagital Curvature Front |
| SI | Superior-inferiorní rozdíl |
| SRAX | Skewed Steepest Radial Axis Index |
| TIMPs | Tkáňový inhibitor metaloproteináz (TIMPs), |
| UCVA | Uncorrected Visual Acuity |
| UVA | Ultrafialové záření A |

ÚVOD

KERATOKONUS

Keratokonus je bilaterální, nezánettivé degenerativní onemocnění rohovky, charakterizované progresivním zvýšením zakřivení rohovky, apikálním ztenčením a následným vznikem nepravidelného astigmatismu. V obecné populaci se vyskytuje přibližně u jednoho pacienta ze 600 obyvatel,²⁰ i když v případě frustní formy keratokonu můžeme jeho výskyt považovat za mnohem častější.

Etiopatogeneze keratokonu

Přesná příčina vzniku keratokonu není doposud známá.¹⁹⁶ Projevuje se většinou mezi desátým a dvacátým rokem věku, jeho výskyt je často zaznamenán i ve věku pozdním. U pacientů s nízkou věkovou hranicí je z hlediska progresse onemocnění považován za nejčastější příčinu vedoucí k transplantaci rohovky. Předpokládaná příčina vzniku keratokonu zahrnuje řadu různých etiologických faktorů patologického procesu keratokonické rohovky: od hromadění destruktivních aldehydů přes abnormální produkci volných radikálů a peroxidů, hojení ran nebo reparaci buněk u reversibilně poškozených buněk, proces apoptózy u ireverzibilně poškozených buněk, lokální protenčení rohovky a jizvení v oblasti hojení rány.¹⁹⁶ Bylo zjištěno, že keratokonus je v první řadě onemocněním ektodermální vrstvy rohovky a stroma, které je mesodermálního původu, je ovlivněno až sekundárně. Většina badatelů se však domnívá, že keratokonus je způsoben abnormalitami tkání mezodermálního původu, což by vysvětlovalo souvislost s nemocemi pojivové tkáně. Redukce kolagenu se přisuzuje zvýšené aktivitě proteolytických enzymů nebo poklesu hladiny inhibitorů proteáz, jako je α 1-inhibitor a α 2-mikroglobulin.^{23,165} Abnormální úroveň aktivity degenerativních proteinů může způsobit pomalý rozpad Bowmanovy membrány a bazální membrány epitelu. Epitel se pak dostane do kontaktu se stromatem rohovky, uvolní se růstové faktory a následkem toho se objevuje jizvení tkáně.⁴³ Také byla popsána hypotéza ztráty předních stromálních keratocytů v důsledku abraze korneálního epitelu. Výsledkem odstranění epitelu rohovky je ekcesivní

produkce interleukinu 1, který vede ke ztrátě keratocytů s následným poklesem kolagenních fibril. U keratokonu je počet receptorů pro interleukin 1 zvýšen čtyřnásobně. Tato teorie může vysvětlovat vztah mezi keratokonem, mnutím oka a nošením kontaktních čoček.^{23,197}

Několik studií potvrdilo mnutí oka jako důležitý etiologický faktor při rozvoji keratokonu.^{23,11} Mikrotrauma ve spojení s mnutím oka může být etiologickým spojením mezi keratokonickou rohovkou a systémovým (atopie) nebo očním (vernální konjunktivitida) onemocněním.^{23,11} Důležitou roli hrají i genetické a hormonální změny.

Genetický faktor u keratokonu je již znám stejně tak i jeho výskyt u monozygotních dvojčat (více než 90 %).^{43,133,134} V 6-15 % případů se keratokonus dědí, v některé populaci může dosahovat až 23,5 %.²³

Při nedostatku klinických znaků lze k diagnostice použít ideografické vyšetření členů rodiny.^{196,43} Na 21. chromozomu byl nalezen gen pro autozomální dominantní formu keratokonu, u familiárního výskytu je nejčastější autozomální dědičnost s inkompletní penetrací a variabilní expresí.^{196,23} Výskyt keratokonu u druhé generace je 3,34 %, což je 15-67krát častější než v běžné populaci, ve které se vyskytuje přibližně v 0,5 % případů.¹⁹⁶ Hormonální změny během těhotenství mohou negativně ovlivnit biomechaniku rohovky, a proto je třeba pečlivě monitorovat těhotné ženy s diagnostikovaným keratokonem nebo po refrakční operaci rohovky a v případě progresu by pacientka po porodu měla podstoupit CXL.¹²

Vyšší náchylnost jednoho pohlaví k onemocnění keratokonem se neprokázala.¹³³ Také klimatické podmínky a rasové rozdíly mohou být u keratokonu významné. Waheeda a kol. uvádí, že u studie ve Středomoří byli asijské pacienti mladší v době diagnostiky a měli čtyřikrát rychlejší průběh ve srovnání s bělochy. U pacientů s atopickým ekzémem lze pozorovat sklony k rychlé progresi ektázie podpořené dlouhodobým užíváním steroidů, které mění biomechanické vlastnosti rohovky a svým účinkem zajišťují redukci zpevnění.¹⁸⁴ Keratokonus se většinou nevyskytuje samostatně, pacient často trpí i řadou jiných nemocí.^{133,23}

Oční onemocnění: vernální konjunktivitida, aniridie, dislokace čočky, zánět pigmentového epitelu sítnice, Leberova kongenitální amauroza.

Systémové nemoci: atopický ekzém, senná rýma, alergie, deficit hořčíku, Downův syndrom, Turnerův syndrom, Ehlersův – Danlosův syndrom, Marfanův syndrom, prolaps mitrální chlopně, Laurence – Moon – Biedlův syndrom, Hegerův syndrom, neurofibromatóza.

Některé nemoci naopak vyvolávají v tkáních přirozené zesíťování. Tímto mechanismem působí např. diabetes mellitus.^{149,189} U kuřáků také lze pozorovat zpevnění rohovky i přesto, že kouření má výrazný kancerogenní vliv a způsobuje rozsáhlé poškození orgánů a cév.²³

Morfopatologie keratokonické rohovky

Keratokonus je heterogenní onemocnění, které může vzniknout na základě různých nezávislých abnormalit metabolické a biochemické povahy.

Nejběžnější prezentace keratokonu je prezentace sporadické poruchy, ve které jen výrazná menšina pacientů vykazuje rodinnou anamnézu, autosomálně dominantní nebo recesivní přenos. Morfologické znaky keratokonu zahrnují tvorbu Fleischerovho ringu, pigmentovaného kroužku, který je výsledkem hromadění částic feritinu v cytoplazmě epitelálních buněk. Z elektronové mikroskopie vyplývá, že rozšiřuje intercelulární prostory, způsobuje změny v Bowmanově vrstvě, kolagenu a PAS-pozitivního materiálu, stromální prořídnutí, abnormální morfologii keratocytů a endoteliální polymorfismus.

V histopatologických a biochemických studiích se keratokonické rohovky vyznačují enzymatickými změnami charakterizovanými zvýšenou expresí proteáz, lyzozomálních a jiných katabolických enzymů, sníženou koncentrací tkáňových inhibitorů metaloproteináz (TIMPs), zvýšenou kolagenolytickou činností, výrazně zvýšenou expresí receptorů IL-4, apoptotických buněk keratocytů a dramatickými změnami v orientaci a distribuci kolagenu s následným ztenčováním rohovky.

Klinické příznaky keratokonu

U keratokonu dochází k pomalému a progresivnímu ztenčování a vyklenutí rohovky v centru nebo paracentrálně. Postižení je většinou bilaterální a asymetrické. Keratokonus progreduje postupně od mírného astigmatismu, který se rychle mění v nepravidelný, dochází k progresivnímu zhoršení vidění a může vést až k praktické slepotě následkem narůstající protruze a subepiteliálního jizvení, ev. akutního hydropsu rohovky. Keratokonus má chronický průběh. Nepravidelný astigmatismus je jen obtížně korigovatelný brýlemi, v pozdějším stadiu bývá korekce brýlemi nebo tvrdou kontaktní čočkou složitá až nemožná. S postupem onemocnění a neustále progredujícím vyklenováním rohovky se mění i osa astigmatismu. Kromě vysoké myopie si pacienti stěžují i na zkreslené vidění a astenopeické potíže.

Rohovkové ztenčení: Nejtenčí a nejstrmější místo na rohovce je apex.^{196,133,134}

Typicky se vyskytuje pod anatomickým středem rohovky, v případě decentrace je lokalizován většinou nazálně.

Munsonův znak: Je pokračující vyklenování rohovky především u pokročilých stadií onemocnění.^{196,134,62} Při pohledu pacienta směrem dolů dochází k odtlačení dolního víčka do tvaru písmena „V“ vlivem vyklenutého apexu rohovky.

Fleischerův prstenec: Fleischerův prstenec je označení pro pigmentový kruh nebo polokruh usazeného železa (hemosiderinu) kolem apexu konu.^{196,133,134,62}

Má žlutohnědou barvu.

Bowmanův stín: Tyto stíny se tvoří přímo na apexu konu nebo v jeho těsné blízkosti. Jsou to strukturální ruptury v Bowmanově vrstvě, které mají za následek nepravidelnou povrchní neprůhlednost a jizvení.^{133,134}

Vogtovy strie: Vogtovy strie jsou série jemných pruhů bělavého zbarvení ve stromatu a v Descemeteské membráně^{196,133,134,62} v důsledku progresivní ztráty lamel v apexu rohovkového konu s následným zašednutím a prosáknutím rohovkového stromatu.

Viditelné rohovkové nervy: V důsledku změn ve struktuře rohovky mohou být v některých případech keratokonu nervová vlákna v rohovce více patrná než u normální zdravé rohovky.^{196,133,134}

Endoteliální pohárový reflex: Je světelný reflex lokalizovaný v konu rohovky, který vzniká v důsledku většího zakřivení zadní plochy rohovky.

Axenfeldův znak: Při progresi onemocnění dochází k vyklenování rohovky a protenčení v oblasti apexu rohovky důsledkem kterého vzniká hyposenzitivita nebo úplná ztráta citlivosti rohovky.

Rizzutiho znak: Osvětíme-li laterálně rohovku v oblasti limbu strmě fokusovaným paprskem, můžeme pozorovat tento světelný reflex.^{196,133}

Akutní hydrops: Vzniká jako následek poruchy endotelu a ruptury Descemetovy membrány v pokročilém stadiu keratokonu zhruba u 5 % pacientů s keratokonem. Dochází k edému ve stromatu, výraznému snížení transparence rohovky, snížené funkci vidění a subepiteliálnímu jizvení.

Klasifikace keratokonu

Rozdělení keratokonu není jednotné. Existuje několik klasifikací keratokonu, které vycházejí z různých parametrů tohoto onemocnění. Jsou známé klasifikace podle poloměru zakřivení rohovky, podle tvaru keratokonu, ale snad nejznámější a nepoužívanější jsou klasifikace podle Amslera a Krumeicha (tab. 1,2)

Klasifikace podle Amslera

V současné době patří klasifikace podle Amslerovy stupnice k nepoužívanějším. Hodnotí strmost rohovky a její patologii.

KLASIFIKACE KERATOKONU

| | Zrak. ostrost s brýlemi | Zrak. ostrost s KČ | Rohovkové indexy | | Excentricita ve 30° | Rmin. | Retinoskopie | Rohovka (štěrbinová lampa) |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-------------------------------|---------------------|--|---|
| | | | ISV | KI | | | | |
| Pre-stage (časné známky) | 20/20 až 20/15 | 20/20 až 20/15 | <30 | 1,04 – 1,07 | Všechny 4 hodnoty v normě | 7,8 – 6,7 | Není zřetelný pohyb světla nebo stínu. Náznažkóvého efektu | Čirá. Horizontální, oválné nebo kulaté stíny centrálně nebo mírně paracentrálně |
| Stupeň 1 | 20/25 až 20/15 | 20/20 | 30 – 55 | 1,07 – 1,15 | 1 hodnota může být abnormální | 7,5 – 6,5 | Distorze retinoskopického reflexu. Nůžkový efekt | Čirá. Fleischerův prstenec. Vyklenutí a jeho báze jsou jasně viditelné. Snížená tloušťka rohovky v apexu není viditelná, je však měřitelná |
| Stupeň 2 | 20/60 až 20/20 | 20/30 až 20/20 | 55 – 90 | 1,1 – 1,25 | 1 hodnota často abnormální | 6,9 – 5,3 | Těžko proveditelná. Zřetelný nůžkový efekt | Často čirá. Apex poněkud protenčený, příp. i decentrovaný. Parciální nebo cirkulární Fleischerův prstenec. Mohou být Vogtovy strie |
| Stupeň 3 | 20/125 až 20/30 | 20/40 až 20/20 | 90 – 150 | 1,15 – 1,45 | Alespoň 1 hodnota abnormální | 6,6 – 4,8 | Téměř neproveditelná. Zřetelný nůžkový efekt | Protenčený, decentrovaný a často mírně zakalený apex. Výrazný a většinou cirkulární Fleischerův prstenec. Jasně viditelné Vogtovy strie. Může být Munsonův příznak. |
| Stupeň 4 | <20/400 až 20/100 | 20/100 až 20/40 | >150 | >1,5 | Alespoň 1 hodnota abnormální | <5 nebo neměřitelné | Nelze provést | Zjizvená a opákní v oblasti apexu. Zřetelný Munsonův příznak |

Tab. 1 Amslerova klasifikace keratokonu, hodnocení podle rohovkové topografie, přeloženo Mazen M. Sinjab,¹¹⁸ *Corneal Topography in Clinical Practice (Pentacam system) – Basics and Clinical Interpretation, 2012, ISBN:978-93-5025-575-9, str. 97*

Klasifikace podle Krumeicha

Méně častá je klasifikace podle Krumeicha, níže je uvedena jeho modifikovaná klasifikace.^{58,27}

| Amslerova-Krumeichova klasifikace | |
|-----------------------------------|---|
| Stadium I | Excentrické rohovkové zestrnění Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus <5 D Poloměr zakřivení ≤48 D Vogtovy strie Absence jizvení |
| Stadium II | Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus 5 D-8 D Poloměr zakřivení ≤53 D Jizvení ne |
| Stadium III | CCT ≥400 μm Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus 8 D-10 D Poloměr zakřivení >53 D Absence jizvení |
| Stadium IV | CCT = 300-400 μm Neměřitelná refrakce Poloměr zakřivení >55 D Centrální jizvení, perforace CCT <200 μm |

Tab. 2 Amslerova-Krumeichova klasifikace keratokonu

Časové období vzniku keratokonu

Keratokonus nejčastěji začíná v období puberty, ve věku 13–20 let. Je to nejčastější forma keratokonu. Dětský věk představuje negativní prognózu z hlediska progresse onemocnění. Čím je dřívější věk postižení, tím závažnější průběh onemocnění můžeme očekávat, závažnější budou také následky a komplikace a hrozí vyšší riziko nutnosti keratoplastiky. Zejména mladší pacienti představují populaci s vysokým rizikem rychlejší progresse onemocnění.¹⁵⁶ Předpokladem této teorie jsou hormonální změny v organismu během puberty. Vyskytuje se bilaterálně, přičemž postižení bývá asymetrické, jedno oko je postižené více než to druhé s nejvýraznější progresí v prvních 8–10 letech postižení. Tito pacienti jsou nejvhodnější k zesíťování rohovky pomocí CXL. Funkční odpověď dětských pacientů na léčbu CXL lze považovat za stabilní v důsledku vyšší plasticity kolagenu v dětském věku. Další kritické období projevu keratokonu je kolem 30. roku života. Bývají postiženy obě oči, téměř symetricky, rozdíl bývá minimální. Progrese i stupeň postižení bývají mnohem mírnější, než je tomu u keratokonu vzniklém u dětí. Nižší funkční stabilizaci rohovky po CXL lze vysvětlit sníženou plasticitou kolagenu v dospělém věku.^{18,19,21} Frustní forma keratokonu je neznámé etiologie a poprvé ji popsal v roce 1937 Amsler. Je to mírná forma keratokonu, která se může objevit kdykoli, neprogreduje a zůstává stabilní během celého života. Projevuje se nepravidelným astigmatismem v centrální nebo paracentrální oblasti rohovky.

Diagnostika keratokonu

Vyšetření štěrbinovou lampou

Štěrbinová lampa umožňuje vyšetření rohovkových změn objevujících se u keratokonu. Po nastavení vhodného zvětšení a osvětlení lze pozorovat mnohé příznaky, jako jsou vertiální Vogtovy strie, ruptury v Bowmanově vrstvě a Descemetové membráně, Fleischerův prstenec, rohovkové protažení, přítomnost jizvení atd.

Keratometrie

Keratometrická měření poskytují základní vstupní numerické parametry o rohovce. Jsou to však limitované informace o profilu rohovky, proto je potřeba tyto informace doplňovat dalšími vyšetřeními. Keratometrie popisuje zakřivení přední plochy rohovky. Je několik druhů keratometrů, avšak všechny vycházejí z principu, že rohovka působí jako konvexní zrcadlo a reflektuje 3–4 % dopadajícího světla. Běžný keratometr používá dvě testové značky a měří sférické zakřivení mezi těmito body. Měřená vzdálenost bývá kolem 3,2 mm. Keratometr předpokládá, že rohovka je sférická, ale ona sférická není. Rohovka je v prostoru měření většinou značně pravidelná, takže chyba keratometru je přibližně 0,01–0,03 mm.

Keratoskopie rohovky

Tradiční keratometrie neposkytuje měření tvarového faktoru, takže je zapotřebí zjistit změnu profilu celé rohovky. Keratoskopie zjišťuje přední profil rohovky pozorováním odraženého obrazu předmětu.⁵² První keratoskop byl Placidův disk a moderní fotokeratoskopie využívá zobrazení Placidova disku na rohovku. Placidův disk je tvořen řadou osvětlených soustředných kruhů, které jsou promítány na rohovku a počítačem zpracovány a vyhodnoceny do výsledné barevné mapy. Rozsah měření na rohovce je 7–9 mm, je zobrazeno 14–24 Placidových kroužků s počtem naměřených bodů 2 600–22 000 i více. Protože je to metoda jednoduchá, nedokáže poskytnout podrobné kvantifikovatelné vyšetření zakřivení rohovky. Uplatnění topografu je v základní diagnostice keratokonu, rohovkové chirurgii a aplikaci terapeutických kontaktních čoček.⁵²

Topografické techniky

Rohovka je hlavním refrakčním povrchem oka, který zodpovídá za dvě třetiny celkové dioptrické hodnoty oka. Zrakovou ostrost nebo korekci refrakce lze výrazně měnit pouze relativně malými změnami v topografii rohovky, a proto je důležité používat citlivou a přesnou metodu měření.⁵² Tyto techniky umožňují kvantitativní a kvalitativní analýzu poloměru křivosti přední plochy rohovky v celém průměru rohovky. Metoda poskytuje informace pro předoperační screening, plánování operace, vyhodnocení výsledků operace a možných komplikací. Rohovková topografie je nepostradatelná pro refrakční chirurgii, operaci katarakty, pooperační péči u keratoplastiky, diagnózy a monitorování keratokonu.

Díky této metodě je také možné dále zákroky zpřesňovat a vylepšovat operační metody. Topografie rohovky může být založena na několika různých principech. V současné době se používají topografické přístroje na báze Placidova disku nebo bez jeho použití. Jedná se o slit-imaging (přístroj Orbscan /Bausch and Lomb/, přístroj Orbscan II již používá zobrazení na základě přidání Placidova disku) dále o Scheimpflugovo zobrazení (přístroje Pentacam /Oculus/ a Galileo /Ziemer/) a laserovou interferometrii (Visante OCT /Zeiss/).

Biomechanika rohovky

Detekce klinicky pokročilého keratokonu není těžká, ale vymezení topografických kritérií, která umožňují rozlišení mezi keratokonem a normální rohovkou je stále problematické. V současné době nejsou k dispozici žádná konkrétní přijatá kritéria. Biomechanické vlastnosti rohovky jsou velmi důležité pro prevenci iatrogenní ektázie v rohovkové refrakční chirurgii a schopnosti správně vyhodnotit nitrooční tlak, který je chirurgií rohovky výrazně ovlivněn.^{110,109} V roce 2005 byl k hodnocení biomechanických vlastností rohovky představen nový přístroj Ocular Response Analyzer (ORA, Reichert Inc, Depew, NY).

ORA je bezkontaktní tonometrie, která poskytuje přesné měření nitroočního tlaku prostřednictvím porozumění viskoelastickým vlastnostem rohovky. ORA sleduje deformaci rohovky pomocí reflexu infračerveného světla pomocí měření kolimovaného proudu vzduchu. Měření trvá přibližně 20 milisekund. Má dvě fáze aplanace rohovky. Během první aplanace tlak vzduchu narůstá a deformuje rohovku směrem dovnitř, rohovka nabývá konkávní tvar. Elektrooptický systém přístroje zaznamená tlak P1, první aplanační fázi. Rohovka se postupně vrací do normální konfigurace, nabývá svůj původní konvexní tvar a nastává druhá aplanační fáze P2. Aplanace je zaznamenána červenou křivkou, registrovány jsou dvě nezávislé hodnoty tlaku, P1 a P2. Rozdíl těchto dvou hodnot tlaků se nazývá korneální hystereze (CH). CH a faktor rezistence rohovky (CRF) mají statisticky významný pozitivní vztah s centrální tloušťkou rohovky (CCT). CH a CRF jsou také statisticky nižší u keratokonu,^{167,51} a jsou také sníženy po LASIKu a povrchové ablaci.^{168,169,137} Nebyly nalezeny asociace mezi CRF ani CH a simulovanou keratometrií, hloubkou přední komory nebo sférickým ekvivalentem.⁵⁰ Paradoxně existuje negativní korelace mezi CH a CRF a věkem.⁵⁰

Je zajímavé, že byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi keratokonickou a normální rohovkou při měření Goldmanova nitroočního tlaku a ne u rohovkou kompenzovaného nitroočního tlaku. V současné době jsou vyvíjeny kromě „klasických“ parametrů ORA, CH a CRF i nové parametry pro hodnocení viskoelastických vlastností rohovky. Nová ORA obsahuje tabulku se všemi indexy, které zobrazují odchylky od normální rohovky a keratokonu.¹¹² Tento přístup má potenciál zvýšit specifitu identifikace normálního biomechanického signálu v případě topograficky nejasného nálezu suspektního keratokonu a potvrzuje abnormální biomechaniku u mírného stadia keratokonu. Nový systém bezkontaktní tonometrie integrovaný s ultravysokorychlostní Scheimpflugovou kamerou byl zaveden v roce 2010 společností Oculus (Wetzlar, Německo). Corvis ST sleduje reakce rohovky na měření kolimovaného impulsu vzduchu se symetrickou konfigurací a pevným maximálním interním tlakem 25 kPa. Kamera zaznamená 4330 obrázků za sekundu a 8,5 mm vodorovného krytí. Rozlišení obrazu je 640 × 480 pixelů.⁷⁵ Přidání ultravysokorychlostní Scheimpflugovy kamery umožňuje dynamickou kontrolu skutečného deformačního procesu a má obrovský potenciál poskytovat další podrobnější interpretaci pro biomechanickou charakteristiku rohovky a správné hodnocení nitroočního tlaku. Předběžné výsledky ukazují statisticky významný rozdíl mezi keratokonickou a normální rohovkou pro mnoho parametrů, jako jsou rychlost rohovky během deformace rohovky, délka aplanace a deformační amplituda (nejvyšší dislokace apexu v nejvyšším momentu konkavity), což jsou důležitá měření viskoelastických vlastností a pevnosti rohovky.^{4,74,75}

DIAGNOSTIKA EKTAZIE PŘÍSTROJEM PENTACAM

Frustní forma keratokonu

Frustní keratokonus (FFKC) je subklinické onemocnění a není variantou keratokonu. Je používáno mnoho dalších termínů jako mírný keratokonus, počínající keratokonus a subklinický keratokonus, jejich přesné významy

a aplikace jsou méně jisté. Tyto termíny nejsou všeobecně akceptovány. Diagnóza keratokonu je klinická tehdy, když jsou klinické příznaky doplněny topografií rohovky, zatímco diagnóza frustní formy keratokonu je jen topografická. V současné době jsou dva názory týkající se definice tohoto onemocnění: ^{118,119}

1. Frustní forma keratokonu je kompletně normální rohovka bez přítomnosti klinických a topografických rizikových faktorů, na které se mohou rozvinout změny ve smyslu keratokonu, pokud by na ní byl proveden laserový refrakční zákrok. Druhé oko stejného pacienta může být keratokonické nebo může podléhat familiární historii keratokonu.

2. Frustní forma keratokonu je abnormální rohovka. Topografie rohovky nebo rohovková hysteréze nebo obě jsou abnormální, tj. existují rizikové faktory, ale pořád nejsou klinicky zřetelné známky keratokonu. Tady jsou také dvě stanoviska týkající se této definice: ^{118,119}

(a) Číselné hodnoty topografie a/nebo rohovkové hysteréze jsou suspektní. (ani normální, ani rizikové).

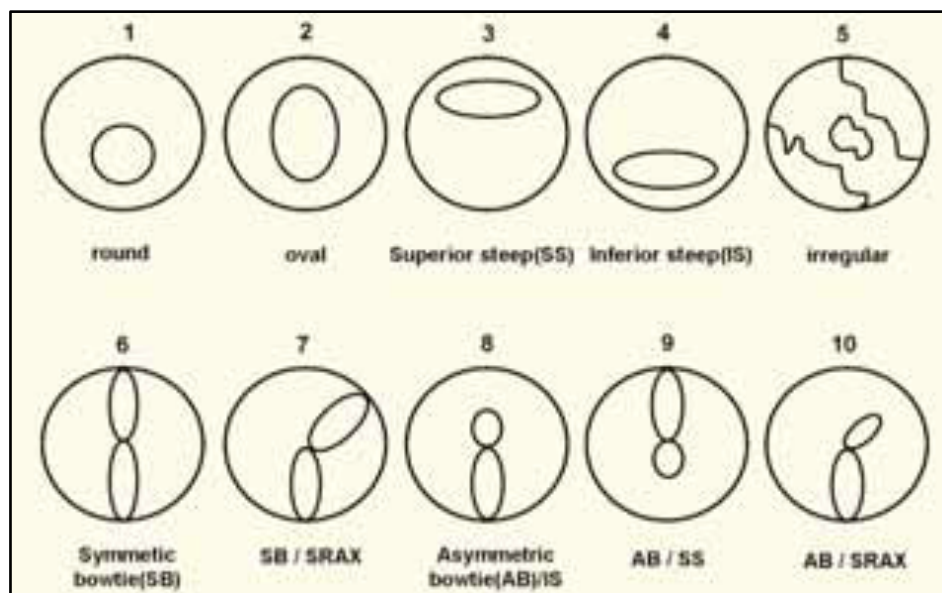
(b) Tvar rohovkové topografie. Klíčové jsou mapa předního tangenciálního zakřivení, relativní pachymetrická mapa a elevační mapa zadního povrchu rohovky. Tangenciální mapa je nejvíce senzitivní pro determinaci geometrie rohovky. Na rozdíl od sagitální mapy je zakřivení na tangenciální mapě ve vztahu k povrchu rohovky, ne tedy k axiálnímu středu povrchu rohovky. Proto ukazuje přesnou polohu vrcholu konu. Relativní pachymetrická mapa udává tloušťku rohovky v daném místě vzhledem k normální tloušťce rohovky v tomto bodě v procentech. Například: body +6 a +9, tzn. v těchto dvou bodech je rohovka silnější proti nulovému bodu o 6 % a 9 %, a naopak je tomu, když jsou tyto hodnoty negativní -6 a -9.

Diagnóza frustní formy keratokonu může být potvrzena, pokud je „hot spot“ lokalizován ve stejném bodě na tangenciálním obrazení, na obrazení elevace zadního povrchu rohovky a na relativní pachymetrické mapě používající jako referenční těleso torický elipsoid.

Parametry potvrzení frustní formy keratokonu:

1. Relativní pachymetrické měření, které přesahuje -3 % je signifikantní.
2. Elevace nad 15 mikrometrů nad torickým elipsoidem na obrazení elevace zadního povrchu rohovky je signifikantní.

3. Apex konu na tangenciálním zobrazení je červený a obvykle má hodnotu vyšší než 48 D.



Obr. 1 Topografické obrazce tvarů rohovky označujících její pravidelnost, Mazen M.Sinjab,¹¹⁸ *Corneal Topography in Clinical Practice (Pentacam system) – Basics and Clinical Interpretation*, 2012, ISBN:978-93-5025-575-9, str.22

Topografická kritéria keratokonu

Při nalezení více než jednoho z těchto kritérií, můžeme některý z výše uvedených vzorů (obr. 1) považovat za keratokonus, frustní formu keratokonu, počáteční fázi keratokonu nebo alespoň podle závažnosti a množství znaků vyslovit případné podezření na ektatické onemocnění rohovky.

Na sagitální mapě:

- (a) K-hodnoty >48 D
- (b) SRAX >22°
- (c) Superior-inferiorní rozdíl (SI) na 5mm kružnici >2,5 D
- (d) Inferior-superiorní rozdíl (IS) >1,5 D

(e) Rohovkový astigmatismus na kterémkoli ze dvou povrchů by neměl být vyšší než 6 D, jinak je to rizikový faktor

(f) Astigmatismus proti pravidlu je považován za suspektní

Na pachymetrické mapě:

(a) Kónický tvar

(b) Superior-inferiorní rozdíl na 5 mm kruhu $>30 \mu\text{m}$

(c) Nejtenčí místo na rohovce $<470 \mu\text{m}$

(d) Hodnoty tloušťky rohovky na apexu a pachymetrická tloušťka rohovky v nejtenčím místě $>10 \mu\text{m}$

(e) Hodnota souřadnice Y v nejtenčím místě $>-500 \mu\text{m}$

(f) Rozdíl v hodnotách pachymetrie v nejtenčím místě rohovky mezi oběma očima $>30 \mu\text{m}$

Na elevační mapě:

(a) Izolované ostrůvky nebo jazykovité extenze (BFS režim) na jednom ze dvou povrchů

(b) Hodnoty $>12 \mu\text{m}$ v centrální 5 mm zóně na přední elevační mapě (BFTE režim)

(c) Hodnoty $>15 \mu\text{m}$ v centrální 5 mm zóně na zadní výškové mapě (BFTE režim)⁹⁶

CROSS-LINKING KOLAGENU ROHOVKY

Do doby uznání CXL jako metody pro léčbu keratokonu přicházely v úvahu terapeutické možnosti, které však nedokázaly zabránit progresi onemocnění. Mezi ně patří kontaktní čočky,¹⁷⁶ intrastromální rohovkové prstence (ICRS, Intrastromal Corneal Ring Segments),^{26,107,14} fotorefraktivní keratektomie⁸⁸ a transplantace rohovky.¹⁴⁵ Během mnoha let výzkumu byla zjištěna řada morfologických rozdílů mezi normální a keratokonickou rohovkou. Za jeden takový rozdíl může být považován relativní nedostatek příčných vazeb mezi molekulami kolagenu v keratokonické rohovce, který poskytuje potenciální vysvětlení pro biomechanické a biochemické abnormality pozorované u keratokonu.^{204,5,127} V posledních letech na základě této teorie roste důkaz

o účinnosti zesíťování kolagenu rohovky⁵ pomocí fotosenzibilizátoru (Riboflavin) a ultrafialového (UVA) záření s vlnovou délkou 370 nm zvýšením pevnosti kolagenu rohovky, a tím zastavení progresu keratoconu^{204,205,148,104,90}, s minimální toxicitou.^{178,209,210,117}

Verifikace historie CXL v literatuře

Myšlenka využití zesíťování kolagenu rohovky k léčbě keratokonu byla nejprve koncipována v Německu výzkumnými skupinami na Technické univerzitě v Drážďanech. V roce 1998 Spoerl a kol.¹⁷⁷ jako první prokázali na prasečích očích zvýšení pevnosti rohovky v důsledku indukce příčných vazeb použitím riboflavinu a UV-záření. Od té doby byla provedena řada studií popisujících účinnost zesíťování kolagenu rohovky.

V roce 2003 Wollensak a kol.²¹¹ poprvé popsali kolagen cross-linking pro léčbu keratokonu u lidí a zjistili, že progresu keratokonu byla zastavena u všech léčených očí s regresí maximální keratometrie u 70 % pacientů. Průhlednost rohovky a čočky, denzita endoteliálních buněk a nitrooční tlak (IOP, Intraocular Pressure) zůstaly nezměněny. V roce 2005 Braun a kol.¹⁵ popsali účinnost CXL u 27 očí s mírnou až pokročilou formou keratokonu. U všech léčených očí se podařilo progresi keratokonu stabilizovat, u 12 očí došlo k regresí onemocnění s redukcí hodnot K_{\max} o 3,01 D a refrakce o 2,14 D. Průhlednost rohovky a čočky, denzita endoteliálních buněk a nitrooční tlak zůstaly nezměněny. U 15 očí se zraková ostrost mírně zlepšila. V roce 2006 Caporossi a kol.²⁰ studovali předběžné výsledky CXL po 3 měsících sledování u 10 očí. Zjistili snížení K_{\max} přibližně o 1,9 D, zlepšení BCVA v průměru o 1,66 řádků a snížení sférického ekvivalentu o 2,5 D. Prokázali také zlepšení morfologické souměrnosti s výrazným snížením chromatické aberace. Počet endoteliálních buněk a IOP zůstaly nezměněny. Raiskup a kol.¹⁴⁸ provedli v roce 2008 v Drážďanech, Německo, rozsáhlou retrospektivní studii, ve které bylo analyzováno 241 očí se sledovací dobou 6 měsíců až 6 let. Zjistili, že zestrmění rohovky v prvním roce výrazně pokleslo o 2,68 D, ve druhém roce pokleslo o 2,21 D a ve třetím roce byl zaznamenán pokles o 4,84 D.

Nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA) se výrazně zlepšila (aspoň o jeden řádek) u 53 % ze 142 očí v prvním roce, u 57 % ze 66 očí ve druhém roce a u 58 % ze 33 očí ve třetím roce nebo zůstaly stabilní u 20 %, 24 % a 29 % v tomto pořadí. Předběžné výsledky australské studie provedené Wittig-Silva a kol.¹⁹⁸ v roce 2008 na 66 očích po ročním sledování prokázaly zploštění K_{max} v průměru o 0,74 D za 3 měsíce, 0,92 D za 6 měsíců, 1,45 D za 12 měsíců po CXL. Trend ke zlepšení v nejlépe korigované zrakové ostrosti (BCVA) byl také pozorován ve skupině pacientů léčené CXL s průměrným zlepšením $-0,01$ LogMAR (Logaritmus of the Minimum Angle of Resolution) po 3 měsících, $-0,07$ LogMAR po 6 měsících a $-0,12$ 32 LogMAR 12 měsíců po CXL. V hodnotách sférického ekvivalentu a hustotě endoteliálních buněk nebyla nalezena žádná statisticky významná změna. V roce 2009 Grewal a kol.⁶¹ hodnotili 102 pacientů po dobu jednoho roku. Nejistili žádný významný rozdíl v průměrných hodnotách parametrů (sférický ekvivalent, vektor astigmatismu, centrální tloušťka rohovky, denzita čočky a foveální tloušťka) před operací a jeden rok po operaci. Stabilní BCVA, sférický ekvivalent, přední a zadní rohovkové zakřivení a elevační změny rohovky 1 rok po zesíťování kolagenu ukazují, že keratokonus dále neprogredoval. Denzita čočky a makula nebyly ovlivněny expozicí UVA záření. Agrawal¹ v roce 2009 publikoval výsledky CXL u 68 indických očí jeden rok po CXL. Zlepšení BCVA alespoň o jeden řádek zaznamenal u 54 % očí a stabilní výsledek (beze změny) u 28 % očí. Astigmatismus se snížil v průměru o 1,20 D u 47 % očí a stejný zůstal u 42 % očí. Hodnota keratometrie na apexu rohovky (K_{max}) klesla v průměru o 2,73 D u 66 % očí a stejná zůstala u 22 % očí. Maximální hodnota keratometrie ($K2$) se snížila v průměru o 2,47 D u 54 % očí a zůstala stabilní u 38 % očí. 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. 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 45,5 D 10 let po operaci) byly rovněž statisticky výrazně nižší. Průměrná hodnota BCVA se zlepšila o 0,14 LogMAR více než před operací.

Předoperační a pooperační BCVA byly statisticky významně odlišné. Počet endoteliálních buněk zůstal nezměněn. Ve své studii tak prokázali účinnost CXL při léčbě progresivního keratokonu, dosažení dlouhodobé stabilizace rohovky po CXL a snížení potřeby transplantace rohovky.

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. Průměrné hodnoty keratometrie rohovky se snížily o 2 D, došlo ke zlepšení symetrie u více než 85 %. Průměrná BCVA se zlepšila o 1,34 Snellenových řádků za 12 měsíců, 1,93 řádku za 24 měsíců, 1,91 za 36 měsíců, 2,03 za 48 měsíců. V roce 2011 Hersh a kol.⁷¹ v rámci FDA studie zhodnotili roční výsledky CXL u 49 očí s keratokonem. Zjistili výrazné zlepšení UCVA (Uncorrected Visual Acuity, Nekorigovaná zraková ostrost) a BCVA a pokles hodnot keratometrií o 2 D v prvním roce po CXL.

Indikace k CXL

Nejčastější indikací ke cross-linking kolagenu rohovky s použitím riboflavinu je mírný až středně pokročilý stupeň progresivního keratokonu. Progrese je obvykle uvedena^{148,61} jako zvýšení maximální keratometrie o 1,00 D nebo více v průběhu jednoho roku nebo na potřebě více než jedné nové kontaktní čočky v předchozích dvou letech. Hodnota maximální keratometrie by měla být menší než 58 D. Tloušťka rohovky v nejtenčím místě by měla být alespoň 400 mikrometrů.¹⁷⁸ Toto tvrzení je založeno na skutečnosti, že UV záření proniká do rohovky do hloubky asi 300 mikrometrů, pokud tato podmínka není dodržena, dochází k ireverzibilnímu poškození endotelu rohovky. Mezi další indikace, pro které byl popsán cross-linking kolagenu rohovky, patří iatrogenní ektazie,⁶⁴ marginální pelucidní degenerace,^{103,92} bulózní keratopatie,^{98,44,17} infekční keratitida,⁷⁷ progresivní hypermetropie po radiální keratektomii,¹⁹⁵ sklerální CXL při glaukomu⁴⁴ a patologická myopie.¹⁷

Princip metody CXL

Tato technika se skládá z fotopolymerace stromálních kolagenových vláken vyvolané kombinovaným působením fotosensibilizační látky (riboflavinu/vitaminu B2) a UVA záření, které indukuje vyztužení rohovky zvýšením počtu intrafibrilárních a interfibrilárních kovalentních vazeb a odolností kolagenu rohovky vůči enzymatické degradaci. Podobný mechanismus přírodního zesíťování kolagenních vláken, byl popsán u keratokonu při stárnutí.³⁵ Je velmi vzácný u diabetes mellitus v důsledku zesíťování kolagenu u produktů pokročilé glykace.^{142,160}

Vlnová délka 370 nm byla vybrána z absorpčního píku riboflavinu na této vlnové délce. Fotopolymerace zvyšuje biomechanickou pevnost kolagenu rohovky v lidské rohovce o 328,9 %.^{160,212}

Riboflavin má dvě důležité funkce.¹⁴⁸ Chová se jako fotosenzibilizátor pro generování tripletového kyslíku. Riboflavin tvoří v kombinaci s UV zářením volné radikály, které způsobují zesíťování. Má bariérový efekt, proniká dostatečně do stromatu a absorbuje UV záření, a tím chrání čočku a sítnici před radiačním poškozením.

Metoda CXL přímo ovlivňuje stromální nerovnováhu a za použití fotosenzibilizátoru a ultrafialového záření typu A vytváří nové kovalentní cross-linky mezi kolagenovými vlákny s cílem zvýšit pevnost rohovky.¹¹⁶

U fotooxidačního zesíťování lze rozlišit tzv. typ I a typ II fotochemické reakce v závislosti na kyslíku dostupného při reakci.⁴⁹ V avaskulární rohovce je atmosférický kyslík dodáván transkorneálně do komorové tekutiny,²⁰⁰ což vede k charakteristickému nárůstu transkorneálního kyslíkového gradientu, který je také odlišný pro otevřené i zavřené oko.¹⁰⁰ V důsledku toho je napětí kyslíku v předním stromatu rohovky ve srovnání se zadním relativně vyšší. Na druhé straně napětí kyslíku je sníženo v důsledku filmu riboflavinu, které je podobné jako u oka krytého kyslík-propustnou kontaktní čočkou.⁴⁷ Z tohoto důvodu se u CXL vyskytují oba typy fotochemických reakcí (I. a II. typu).¹²⁴ Během CXL probíhá fotooxidační zesíťování kolagenu rohovky, při kterém je riboflavin nabuzen do stavu vytvářejícího reaktivní tripletové formy kyslíku.

U anaerobní fotochemické reakce I. typu tripletový riboflavin reaguje přímo s kolagenními bílkovinami a vytváří volné radikály.

U aerobního typu II fotochemické reakce tripletový riboflavin reaguje s molekulárním kyslíkem za vzniku singletového kyslíku. Reaktivní formy kyslíku můžou dále reagovat s různými molekulami indukujícími chemické kovalentní vazby (typ II fotochemické reakce). U reakcí II. typu je nezbytný kyslík k vytvoření singletového kyslíku. Singletový kyslík je fyzikálně excitovaná forma molekuly kyslíku.⁴¹ Interakcí s tripletovým kyslíkem vzniká velmi reaktivní singletový kyslík. Je to kyslíkový radikál, který setrvává v interakci s karbonylovou skupinou kolagenů. Pokud však dojde k depleci nezbytného kyslíku účinkem UV záření, převládá reakce I. typu. Při metodě CXL probíhají obě reakce. Současné práce naznačují, že CXL vede k tvorbě cross-linků nejen mezi molekulami kolagenu, ale i mezi proteiny proteoglykanového jádra.²¹⁸ Zdá se, že mohou vznikat i interfibrilární vazby, CXL však nezvyšuje počet interlamelárních zesíťovaných vazeb.²¹³ Maximální účinek zesíťování kolagenu je v přední části rohovky v hloubce 300 mikrometrů z důvodu rychlého poklesu UVA záření v rohovkovém stromatu v důsledku lepší absorpce riboflavinu UVA. Obrát kolagenu v rohovce je zhruba dva tři roky. Takže k dosažení dlouhodobé stability rohovky může být nutná opakovaná léčba.²¹¹ Cílem cross-linkingu kolagenu rohovky s použitím riboflavinu a UVA záření je uměle zvýšit stupeň zesíťování v korneálním stromatu, a tím zabránit progresi onemocnění zajištěním dostatečné mechanické stability.

Standardní technika CXL

Corneal cross-linking je ambulantní zákrok, který se provádí za sterilních podmínek na operačním sále. Na většině pracovišť je používáno provedení CXL podle první původní studie z Drážďan, Německo, nazývané „standardní protokol“. Na ozáření rohovky se používají různé ozařovací systémy např. UV-XTM 1000, IROC GmbH, Curych, Švýcarsko. Třicet minut před provedením corneal cross-linkingu jsou pacientovi podány léky proti bolesti, ev. na uklidnění. Je možné aplikovat 2% pilokarpin kapky z důvodu snížení tepelného a fotochemického účinku UVA záření na ochranu čočky a sítnice před poškozením z ozáření. K znecitlivění rohovky se používá lokální instilační anestezie, po které je nasazen rozvěrač víček a odstraněn epitel rohovky na ploše o průměru 8,0 mm. Po odstranění epitelu je rohovka saturována

fotosenzibilizační látkou, která absorbuje UVA záření a znovu změřena tloušťka rohovky ultrazvukovou pachymetrií. Jako fotosenzibilizační látka se používá 0,1 % riboflavin. Isoosmolární riboflavin 0,1 % je generován zředěním vitamínu B2-riboflavin-5-fosfát 0,5 % s dextranem T500 20 %, (402,7 mOsmol/l). Dextran v isoosmolárním roztoku riboflavínu omezuje otok rohovky, pomáhá udržovat a kontrolovat prostředí s cílem zajistit maximální účinnost CXL. 0,1 % riboflavin oční kapky se aplikují na povrch rohovky v intervalu 5 minut po dobu 30 minut. Po nasycení stromatu rohovky je bezprostředně před zákrokem znovu změřena tloušťka rohovky v předpokládaném nejtenčím místě. Toto měření je rozhodující pro volbu isoosmolárního nebo hypoosmolárního roztoku riboflavínu. Za hraniční tloušťku rohovky v nejtenčím místě po odstranění rohovkového epitelu je považována hodnota 400 μm . Je-li rohovka po odstranění epitelu tenčí než 400 μm , používá se roztok hypoosmolární. Po nasycení rohovky riboflavínem je jeho přítomnost v přední komoře kontrolována na štěrbinové lampě pomocí modrého filtru. Deepitelizovaná centrální plocha rohovky je pak ozářena UVA zářením o vlnové délce 370 nm a intenzitě 3 mW/cm^2 ze vzdálenosti 5 cm. Během ozařování se na rohovku aplikuje riboflavin ve formě kapek každé 3 minuty. Ozařování trvá 30 minut. Pooperačně jsou pacientovi aplikovány lokální antibiotika ve formě kapek a nasazena terapeutická kontaktní čočka až do ukončení epitelizace rohovky. Kompletní reepitelizace je obvykle ukončena v průběhu 3-4 dnů, poté je terapeutická kontaktní čočka odstraněna. Po reepitelizaci rohovky je nasazena lokální kortikosteroidní léčba Dexamethasonem (ev. Flourometolon acetát 0,1 %) po dobu 4 týdnů.

CXL u tenké rohovky

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 předoperační použití hypoosmolárního roztoku riboflavínu, za pomoci kterého tenká rohovka nabobtná na tloušťku stromatu minimálně 400 μm . Hypoosmolární riboflavin 0,1 % roztok je generován zředěním vitamínu B2-riboflavin-5-fosfát

0,5 % fyziologickým roztokem soli (0,9 % roztok chloridu sodného) (310 mosmol/l). Hypoosmolární riboflavin neobsahuje dextran. Stejně jako isoosmolární riboflavin musí být chráněn před světlem a spotřebován do 2 hodin. Aplikace hypoosmolárního roztoku riboflavinu chrání zesíťovanou rohovku před vznikem stromálních jizev a ztráty endoteliálních buněk.^{150,152} V případě stromální tloušťky rohovky menší než 400 µm je možné modifikovat standardní protokol CXL následovně:

transepiteliální zesíťování C3-R;²⁰⁸

regulace peroperačního otoku stromatu rohovky použitím hypoosmolárního riboflavinu bez dextranu nebo jen destilovanou vodou;⁶⁵

použití pachymetrií vedenou abrazí epitelu rohovky při ponechání neporušeného epitelu v oblastech ztenčení rohovky;¹⁰³

použití silnějšího filmu riboflavinu obsahujícího metylcelulózu.²⁰⁶

I indikační kritéria k CXL mají svá omezení. 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.

Modifikace standardního provedení CXL

Od zavedení CXL bylo provedeno několik variací standardního zesíťování. Pokud jde o předoperační nasycení riboflavinu, byly zaznamenány změny v době aplikace v rozsahu od 5 do 30 minut.^{211,178} Co se týká epitelu rohovky, lékaři se pokoušejí vyhnout odstranění korneálního epitelu s cílem zvýšit komfort a bezpečnost pacienta. U tzv. transepiteliální C3-R techniky se používají benzalkoniumchlorid, EDTA nebo tetrakain obsahující anestetické oční kapky po dobu 30 minut a poté dalších 30 minut se používá předoperační roztok riboflavinu.²⁴ Nicméně použitím této techniky je dosaženo pouze 20% biomechanického účinku standardního CXL.²⁰⁸

Určitým kompromisem je provedení pouze částečné abraze epitelu, která umožní snadnější průnik riboflavinu do stromatu rohovky a rychlejší epitelizaci.

Krueger a kol. navrhli techniku s použitím femtosekundového laseru, u které jsou vytvořeny dvě stromální kapsy v hloubce 150 μm a 350 μm . Nejdříve je roztok riboflavinu injekčně aplikován do hluboké kapsy a poté je ozářen UVA zářením s 15 mW/cm^2 po dobu 6 minut, následně je roztok riboflavinu stejným způsobem aplikován do povrchové kapsy a opět ozářen 15 mW/cm^2 po dobu 6 minut.⁸¹ Podobně byla popsána technika s vytvořením pouze jedné kapsy v hloubce 100 μm s iradiací 15 mW/cm^2 po dobu 15 minut.¹⁶³ Použití stromálních kapes vede k oslabení biomechanické stability rohovky, proto se u keratokonu nedoporučuje. K urychlení pooperačního hojení epitelu někteří lékaři provedli „mřížkový vzor“ epitelové abraze. Po této modifikaci CXL verifikovanou pomocí spektrofotometrání analýzy docházelo k výrazně snížené a nehomogenní absorpci riboflavinu.⁸ Byly navrženy i další metody pro odstraňování epitelu, jako je například použití 20 % alkoholu.¹⁶³ Snaha byla i o povrchové odstranění 35 μm epitelu pomocí excimerového laseru. Ve srovnání se skupinou pacientů s kompletní epitelální abrazí se zvýšil čas aplikace riboflavinu z 31,3 na 43,7 minut a významně byly vyšší i pooperační bolesti.⁸ Z hlediska doby ozáření, byly provedeny pokusy o zvýšení účinnosti ozáření a snížení času na 15 minut¹⁶³ nebo 25 minut.²⁰ V rámci pooperační péče byly učiněny pokusy zvýšit komfort pacienta a snížit míru předčasného pooperačního zkalení rohovky. Pro pooperační péči bylo navrženo použití měkké kontaktní čočky, pooperační aplikace dexamethasonu, flurbiprofenu a kyseliny hyaluronové nebo aplikace jiných umělých slz ve formě očních kapek.^{201,202} Kromě toho byly použity léky proti bolesti s 500 mg paracetamolu²⁰ nebo i malé množství tetrakainu lokálně.⁸ V současné době se zkoumají i alternativní metody. Byl navržen tzv. Flash-linking, non-kolagenní zesíťování hydrogel polyvinylpyrolidonu ve stromatu rohovky.¹⁵⁸ Bylo zkoumáno chemické zesíťování s použitím alifatických b-nitro alkoholů. Problém chemického zesíťování je neschopnost lokalizovat účinek, v důsledku kterého dochází k zesíťování i přilehlých očních struktur např. trabekulární trámčiny nebo skléry.^{139,140}

Základní účinky CXL

Nárůst Youngovho modulu o 328 % (zvýšení biomechanické pevnosti rohovky o 328%)

Zvýšení modulu pružnosti v čase o 1,7

Zvýšení rezistence vůči stresu 4,5krát

Zvýšení teploty smrštění o 5 °C

Zvýšení odolnosti vůči hydrataci

Zvýšení odolnosti vůči enzymatické degradaci

Zvýšení průměru kolagenních vláken o 12,2 %

Snížení apoptózy keratocytů na 300 μm

Antimikrobiální účinky

Snížení permeability rohovky^{183,177,187,188,207,212,215}

Ultrastrukturální změny v rohovce po CXL

Za fyziologických podmínek jsou molekuly kolagenu po opuštění buňky enzymaticky zesíťovány v extracelulárním prostoru pomocí enzymu lisyloxidázy.⁷⁹ Kolagen tak získává svou přirozenou pevnost, stabilitu a tkáňově specifické elastické vlastnosti. Lisyloxidáza je enzym transformující skupiny aminokyselin na aldehydy, které mohou spontánně reagovat v reakci zvané aldolová kondenzace nebo s ε-aminoskupinami aminokyselin za vzniku aldininu a kovalentního zesíťování. U keratokonu se předpokládá defekt genu pro lisyloxidázu,¹¹¹ porucha aktivity lisyloxidázy vlivem nárůstu pH v slzách⁶ a v případě jizvení je aktivita lisyloxidázy zvýšena.¹⁹⁴ Vlivem CXL dochází ke zvýšení rezistence vůči enzymatickým degradačním procesům zvýšením podílu kolagen-degradujících enzymů v slzné tekutině, což může rovněž přispívat ke ztenčení korneálního stromatu.^{113,175} CXL zesíťovaná rohovka nepodléhá rychle enzymatické degradaci kolagenázou jako neléčená rohovka.¹⁸³ Kromě enzymatického zesíťování může vzniknout i zesíťování neenzymatické. To je způsobeno chemickými zesíťovacími prostředky nebo aldehydy cukrů.¹⁷⁹ Zesíťovaný kolagen vykazuje menší tendenci k bobtnání²⁰⁷ a snížení permeability.^{187,188} Tyto poznatky je možné využít v léčbě bulózní keratopatie,

dekompenzované Fuchsovy endoteliální dystrofie.³⁹ Zvyšuje se tolerance rohovky k nošení kontaktních čoček.

Vlivem CXL dochází k poklesu počtu keratocytů v předním a středním stromatu až do hloubky 300 mikronů,¹⁷⁸ které je spojené s otokem rohovkového stromatu ihned po ošetření. Postupem času do rohovky migrují nové keratocyty z oblasti limbu. Přibližně tři měsíce po zesíťování kolagenu rohovky dochází k repopulaci keratocytů v centrální ošetřované oblasti a otok stromatu postupně vymizí.

V době 3–6 měsíců po CXL pomocí konfokální mikroskopie byla prokázána zvýšená denzita (hyperreflektivita) extracelulární matrix kombinovaná s přítomností jader keratocytů.

Po CXL chybí subepiteliální a předněstromatová nervová vlákna. Kompletní repopulace aktivovaných keratocytů a regenerace nervových vláken trvá asi 6 měsíců.^{88,201} V důsledku opětovného osídlení keratocyty se zmenšuje zakřivení rohovky přibližně o 2 dioptrie.¹²⁰

CXL vede ke zvětšení tloušťky kolagenních vláken v přední části stromatu o 4,5%.²¹⁵ 65% UV záření je absorbováno v prvních 200 μm. Koncentrace riboflavinu se zvyšující se hloubkou rohovky lineárně klesá v souladu s difúzním gradientem.³⁴ S narůstající hloubkou se snižuje stupeň zesíťování, v zadní části rohovky nacházíme menší průměr vláken,²¹⁵ zvyšuje se enzymatická degradace^{183,170} a větší účinek smrštění.¹⁸² Teplota smrštění rohovky se po CXL zvyšuje ze 63 °C na 70 °C, teplota smrštění pozitivně koreluje se stupněm zesíťování.⁵¹

Jelikož CXL je proces podobný fotosyntéze, jak jej známe u rostlin, nedochází k podstatné proměně energie záření na energii tepelnou. Tepelná energie tvoří pouze minimum. Větší část energie je proměněna na energii chemickou. Teplota při CXL se zvyšuje o 2-3 °C. Toto zvýšení je pouze podprahové, a proto jeho vlivem k tepelnému poškození rohovky nedochází.¹²⁸

Lokalizace největšího zesíťování kolagenu v přední části rohovky je velmi výhodná, čímž je zabráněno cytotoxickému poškození endotelu.^{121,205} Po CXL bylo pozorováno statisticky nevýznamné snížení počtu endoteliálních buněk, které souvisí s fyziologickou redukcí buněk endotelu a činí přibližně 2 % za rok. Vyšetření rohovky pomocí konfokální mikroskopie jeden rok po provedení CXL neodhalilo změny denzity a morfologie endoteliálních buněk.¹²⁰

Mechanická stabilita rohovky je primárně dána strukturou kolagenových molekul a jejich prostorovým uspořádáním. Dlouhé kolagenní fibrily se větví a současně se napínají od limbu k limbu. Po CXL vzniklé cross-linky stabilizují rohovku mechanicky. V důsledku zvýšení (např. v případě diabetu mellitus nebo jizvení) nebo snížení (např. u Ehlers-Danlosova syndromu) stupně zesíťování vznikají patologické tkáňové změny.

S přibývajícím věkem se zvyšuje počet cross-linků, a tím i rigidita struktur.

Rohovka po CXL je pevnější a pružnější než normální rohovka o faktor 1,7.

Zpevňující účinek je vyšší v případech s vyšším obsahem kolagenu a u starších rohovek.^{2,212} Podobné změny vznikají vlivem slunečního záření a kouření.^{87,114}

Zobrazení rohovkových změn po CXL

Na diagnostiku keratokonu se v současnosti používají velmi citlivé metody, které nám umožňují správně indikovat pacienty s keratokonem k zesíťování rohovky. Aby bylo možné pozorovat v oblasti měření lokální změny v pevnosti rohovky, jsou potřebné přístroje s vysokým rozlišením. Umožňují prokázat zesíťovací účinek CXL a monitorovat změny biomechanických změn rohovky. K tomuto účelu se používá několik měřících metod. Od prvního popisu Lucem¹¹² v 2005 je Ocular Response Analyzer (ORA, Reichert Ophthalmic Instruments, Depew, New York) široce využíván k hodnocení rohovkové biomechaniky.^{168,184} Rohovková hysteréze (CH) a korneální faktor rezistence (CRF) jsou hlavní biomechanické parametry měřené Ocular Response Analyzerem. Několik studií^{159,167,42} srovnávalo biomechanické vlastnosti normální a keratokonické rohovky a zjistili, že rohovka s keratokonem má nižší korneální hysterézu a rezistenci. Nicméně tyto parametry jsou derivovány z vlastních algoritmů aplikovaných na naměřené křivky, proto ORA-ou nelze zobrazit dynamiku deformačního procesu v reálném čase. Z tohoto důvodu byly vyvinuty další výzkumné technologie pro měření biomechaniky rohovky.

Zobrazení Scheimpflugovou kamerou

Jednou z nich je vizualizace pomocí dynamické ultravysokorychlostní Scheimpflugovy kamery (Corvis ST, Oculus, Wetzlar, Německo). Tento systém zobrazuje deformace rohovky v reálném čase a zaznamenává parametry

deformace pro analýzu rohovkové biomechaniky.⁷⁴ Corvis ST umožňuje neinvazivní zobrazování dynamické deformační odpovědi rohovky na proud vzduchu. Vysokorychlostní Scheimpflugova kamera zaznamenává deformace s plnými průřezy, které jsou pak zobrazeny v pomalém pohybu na ovládacím panelu. Kamera zaznamená 4330 obrázků za sekundu a 8,5 mm vodorovného krytí. Rozlišení obrazu je 640 × 480 pixelů.⁷⁵

Ocular Response Analyzer

Předchozí studie prokázali, že po CXL dochází k formacím cross-linků, které indikují korneální stabilitu.¹⁸⁰ Po provedení CXL dochází ke změně signálu. Spoerl a kol.¹⁸⁰ provedli analýzu biomechanických vlastností rohovky u keratokonických očí a zjistili, že změna v parametru p2area se jeví jako více senzitivní parametr k detekci biomechanických vlastností rohovky po CXL než jen samotné CH a CRF.¹⁸⁰ Deformační odpověď normální a zesíťované keratokonické rohovky by se měla lišit. Goldich,⁵⁶ Sedaghat a kol.¹⁷² a Spoerl a kol.^{180,181} v nezávislých studiích neprokázali žádné změny hystereze rohovky po zesíťování.

Konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskop je druhem optického mikroskopu, jehož výhodou je vyšší rozlišovací schopnost daná detekcí světla pouze z ohniskové roviny mikroskopu. Brillouinovo zobrazení může vyhodnotit biomechanické vlastnosti rohovky in situ za použití vysokého prostorového rozlišení před provedením a po provedení CXL.¹⁶⁶ Akusticky vyvolaný nepružný rozptyl světla, poprvé zaznamenán v roce 1922 Brillouinem¹⁶, umožňuje bezkontaktní, přímý odečet z viskoelastických vlastností materiálu. Pomocí tohoto systému je možné zobrazování na bázi elastických vlastností, jako jsou mechanismus kontrastu a sledování rychlých dynamických změn v modulu pružnosti během zesíťování polymeru. Běžné mechanické zkoušky, jako jsou dynamické mechanické analýzy a reometrie, vyžadují mechanické síly a ačkoli jsou přesné a komplexní, nehodí se pro měření s vysokým rozlišením. Miniaturizované mechanické metody jsou stále propracovanější,¹⁰ ale jsou omezeny pouze na měření povrchu.

Ultrazvuková elastografie

Elastografie je slibná technika používaná k získání mechanických informací z konstrukční deformace obrazu¹³⁵ bez ohledu na citlivost na předpokládané rozložení napětí a fyziologické limity pohybu prostorového rozlišení a přesnost měření. Akustické techniky, jako jsou například ultrazvuk a akustické mikroskopie, jsou neinvazivní a můžou nabídnout mikroskopické rozlišení. Tyto techniky však mají tendenci být efektivní pouze pro vzorky s jednoduchou vnitřní strukturou,⁵⁹ neboť detekované signály (akustické ozvěny) pocházejí z prostorového derivátu akustické impedance, které jsou měřeny, a nikoli z jeho absolutní hodnoty. Na základě změn frekvenčního spektra ultrazvukového signálu lze činit závěry ohledně biomechanických změn. Zesíťováním dochází ke změnám kolagenu a souběžně s tím i ke změnám rychlosti zvuku vertikálně od povrchu rohovky⁶⁸ i souběžně s povrchem.¹⁵⁸ Při použití metody Supersonic Shear Imaging dochází deformaci (10 μm) rohovky ultrazvukem a šířící se střížné vlny jsou detekovány ultrarychlým ultrazvukovým zobrazením (20000 snímků za sekundu). Pomocí tohoto měření lze získat kvantitativní mapu lokální elasticity rohovky o vysokém rozlišení (rozlišení 150 μm).¹⁹²

Autofluorescence

Pomocí dvoufotonové mikroskopie lze vyhodnotit stupeň zesíťování kolagenu, které není patrné za použití štěrbinové lampy a konfokální mikroskopie. Po provedení CXL dochází ke změně tkáňové autofluorescence. Zesíťovaný kolagen má odlišnou autofluorescenci než nezsesíťovaný kolagen. Při použití speciálních filtrů lze tyto změny detekovat pomocí konfokální nelineární mikroskopie.²³

Měření nitroočního tlaku u keratokonu po CXL

Tloušťka a pevnost rohovky ovlivňuje měření nitroočního tlaku při aplanační tonometrii. Vzhledem k tomu je třeba očekávat, že po zesíťování a zpevnění rohovky bude naměřená hodnota nitrooční tenze příliš vysoká.

Kymionis a kol.¹⁰⁶ ve studii se statistickou významností prokázali, že po CXL naměříme příliš vysokou hodnotu nitroočního tlaku. Vzhledem k rozptylu hodnot nitrooční tenze je vliv CXL na měření nitroočního tlaku nevýznamný.

Management keratokonu

Během posledního desetiletí byla provedena řada studií o CXL u keratokonu, které slibují významný pokles počtu transplantací rohovky z této indikace.¹⁶⁴

V roce 2015 Sandvik a kol.¹⁶⁴ vyhodnotili frekvenci potřeby transplantace rohovky po zavedení CXL u pacientů s keratokonem. V období před érou CXL bylo 63,6 % očí ve 4. stadiu keratokonu podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace, ve srovnání s 96,2 % očí v období používání metody CXL. Frekvence keratoplastiky pro keratokonus významně klesla.¹⁶⁴

CXL samotné nebo v kombinaci s dalšími zákroky (implantace ICRS, topo-guided PRK, fakické IOL) zabraňuje progresi onemocnění s cílem ušetřit mnoho pacientů od dlouhodobé závislosti na nošení tvrdých plynopropustných (RGP) kontaktních čoček. Kombinace léčebných metod vede kromě zastavení progresu onemocnění i ke zlepšení refrakčních vlastností oka. Všechny tyto zákroky vyžadují dobrou sanaci povrchu oka (např. atopická keratokonjunktivitida v kombinaci s keratokonem), vyhnout se jejich indikacím v pokročilém (IV.) stadiu onemocnění, kde je přítomné zjizvení rohovky. Kromě těchto základních společných požadavků se nadále vyvíjí definice indikací, načasování a sledu nových intervencí. Management keratokonu zahrnuje dva hlavní cíle: stabilizaci tvaru rohovky a rehabilitaci zrakové ostrosti.

Stabilizace tvaru rohovky

Progrese keratokonu

Před provedením zesíťování rohovky je potřeba nejdříve monitorovat onemocnění a poté definovat indikace k CXL na základě progresu onemocnění. K prediktivním faktorům zvýšeného rizika progresu keratokonu patří mladý věk (<35 let), strmé keratometrie, vysoký astigmatismus, snížení nejlépe korigované zrakové ostrosti v důsledku nepravidelného astigmatismu, rasa jiná než bílá evropská a progresu onemocnění na kontralaterálním oku.^{193,57,126}

Standardní CXL, „epitel-off“

Před aplikací kapek riboflavinu musí být epitel mechanicky odstraněn. Intaktní epitel představuje pro riboflavin neprostupnou bariéru. Difuze riboflavinu do hlubších vrstev stromatu vyžaduje určitý čas v souladu se zákonem o difúzi.^{178,166} Roztok riboflavinu na rohovku s odstraněným epitelem se aplikuje 30 minut před UVA zářením s cílem dosáhnout vysoké celkové koncentrace a vysoké celkové absorpce a zaručit tak ochranu endotelu rohovky, čočky a sítnice. Nejvyšší koncentrace riboflavinu je přítomna v přední části stromatu, koncentrace riboflavinu vykazuje lineární pokles s rostoucí hloubkou stromatu.^{34,80,178,185} Zesíťování kolagenu rohovky použitím standardního protokolu „epitel-off“, původně popsáným Wollensakem a kol.,²¹¹ je účinný při zastavení progresse onemocnění (52 % stabilizací, 45 % regresí). Pouze 3 % očí vykazovalo další progresi onemocnění.^{131,71} V Siena Eye Cross studii byly publikovány dlouhodobé výsledky (průměrně 52 měsíců sledování) standardní léčby CXL.²² Jednalo se o prospektivní, non-randomizovanou studii 44 očí s progresivním keratokonem léčených CXL. Bylo zjištěno zastavení progresse ektázie s průměrným snížením K_{\max} o 2 D a zlepšení BCVA 2 ± 1 Snellenových řádků. Dvouleté výsledky nekontrolované prospektivní studie¹⁹⁸ 40 dětí (průměrný věk $14,2\pm 1,7$ let) s mírným onemocněním (3 mm zóna strmé $K < 53$ D) potvrdil podobné výsledky jak s UCVA a BCVA zlepšující se o 2 řádky (LogMAR), tak i snížení K_{\max} o 1,27 D. Další důkaz o účinnosti epitel-off CXL se nachází ve třech randomizovaných kontrolovaných studiích, které publikovali 12měsíční výsledky.^{131,71,204} Ke spontánní regresí u keratokonu obvykle nedochází a zjevná regrese onemocnění (pokles $K_{\max} > 1$ D) ve studiích může jednoduše odrážet problém v omezení přesnosti topografického měření RGP kontaktní čočkou deformované rohovky. Tato omezení a různá kritéria pro zařazení do současných studií zdůrazňují problém definování progresse onemocnění u keratokonu a definování prahové hodnoty pro intervenci CXL. 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 CXL, C3-R, „epitel-on“

Transepiteliální metoda slibuje nesporné výhody nebolestivé rehabilitace zraku a redukci komplikací souvisejících s odstraněním epitelu ve srovnání se standardním „epitel-off“ ošetřením. U transepiteliální metody CXL není odstraněn epitel rohovky. Je známo, že epitel tvoří bariéru rohovky svými mezibuňkovými spoji. Propustnost epitelu rohovky pro riboflavin je u této metody ovlivněna pomocí tzv. „enhancers“, látek zvyšujících epiteliální propustnost. Existuje několik způsobů zvýšení penetrace riboflavinu přes rohovkový epitel: prodloužením doby kontaktu (viskózní roztok, aplikace kroužku), změnou permeability epitelu (benzalkoniumchlorid /BAC/, kyselina ethylendiamintetraoctová /EDTA/, mechanické změny) a pozměněním fyzikálně-chemických vlastností roztoku riboflavinu (osmolarita, iontoforéza, koncentrace).⁵⁸ Mezi látky, které rozvolňují epitelové spoje patří kromě benzalkonium-chloridu (BAC) a kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) i tetrakain, proparakain, ethanol a gentamicin. BAC zvyšuje permeabilitu epitelu uvolněním těsných spojů, což může být důvodem k pozměnění standardního „epitel-off“ provedení CXL a provádění „epitel-on“ léčby pomocí BAC, tetrakainu nebo pilokarpinu s obsahem BAC a EDTA.

První systémovou studii týkající se „epitel-on“ CXL bez odstranění epitelu provedli Wollensak a kol.²⁰⁸ Na králičím oku testovali isoosmolární riboflavin (s 20% dextranem) + 0,005 % BAC, kde zjistili slabý biomechanický účinek. Kissner a kol.⁸⁹ na králičím oku testovali různé koncentrace BAC v roztoku 0,1 % riboflavinu v 0,44 % NaCl. Zjistili dobrou absorpci UV a dobrý biomechanický účinek při použití roztoku obsahujícího 0,02 % BAC. Dextran inhibuje růst paracelulární vodivosti a působí tak proti „bobtnání“ rohovky. Redukuje perioperační korneální otok. Proto by roztok riboflavinu u transepiteliální metody CXL neměl obsahovat dextran, ale 0,01 % BAC a 0,44 % NaCl ke zvýšení permeability epitelu. To umožní dosáhnout vysoké koncentrace riboflavinu v rohovkovém stromatu.¹⁵¹

Zesíťování kolagenu rohovky zobrazuje pomocí optické koherentní tomografie (OCT) v předním stromatu demarkační linii, která je po transepiteliálním provedení CXL viditelná v hloubce 100 µm na rozdíl od 250 µm při metodě epitel-off.^{58,48} Filippello a kol.⁴⁸ tvrdí, že jelikož je účinnost „epitel-off“ a „epitel-on“

CXL soustředěna do dvou různých vrstev, metoda transepiteliální CXL může být použita v případě selhání epitel-off CXL. Naopak, pokud budou další pokračující klinické důkazy podporovat srovnatelnou účinnost a lepší bezpečnost „epitel-on“ metody ve srovnání se standardní epitel-off CXL, je možné, aby transepiteliální CXL mohla být významná v první linii léčby při stabilizaci tvaru rohovky u nově diagnostikovaného keratokonu, následována druhou linií léčby pomocí „epitel-off“ CXL, pokud by došlo k progresi onemocnění. Stojanovic a kol.¹⁸⁹ popisují použití riboflavinem nasáklého polyvinylacetátového tamponu (Meroceal houba, Medtronic, Inc, Minneapolis, MN, USA), který vložili do spojivkového vaku s cílem mikroabraze povrchové vrstvy epitelu při mrkání. Ve spojení s použitím proparakainu, gentamicinu a BAC, jejich 12měsíční výsledky ukazují výrazné zlepšení UCVA, BCVA, refrakce a keratometrických indexů.

„Epitel-on“ versus „epitel-off“

Zda transepiteliální CXL může poskytnout podobné výsledky zesíťování rohovky jako standardní provedení, CXL zůstává i nadále jednou z velkých otázek. V Evropě byl vyvinut riboflavin se speciálním složením, který pomáhá usnadnit transepiteliální CXL, tzv. Ricolin TE.¹⁹⁰ V současné době pořád probíhají studie k hodnocení účinnosti transepiteliálního CXL, zejména ve Spojených státech. Výsledky jsou podobné těm jako z „epitel-off“ CXL. Mezi nesporné výhody transepiteliální CXL patří nebolestivost, nižší riziko infekce rohovky a urychlení hojení epitelu. Zatímco výsledky s „epitel-off“ CXL mají tendenci být výrazně lepší u mladších pacientů než u lidí starších 35 let, tento rozdíl se nezdá být problém s transepiteliálním provedením CXL.¹⁹⁰ Transepiteliální CXL také umožňuje rychlejší obnovení zrakové ostrosti a méně nepohodlí.

Rehabilitace zrakové ostrosti

Po stabilizaci tvaru rohovky pomocí CXL lze zlepšení zrakové ostrosti dosáhnout použitím konzervativních postupů nebo prostřednictvím chirurgické intervence.

Kontaktní čočky

Včasná intervence CXL u keratokonu by měla do budoucna výrazně snížit počet pacientů závislých na RGP (Rigid Gas Permeable, Tvrdé plynopropustné

kontaktní čočky) kontaktních čočkách a transplantaci rohovky. Současnou strategií nošení kontaktních čoček u keratokonu komplexně popsali Barnett a Mannis.⁹

Měkké čočky a měkké torické čočky mohou poskytnout dobrou vizuální rehabilitaci v počátečním stadiu keratokonu, RGP čočky jsou obvykle nutné ke korekci významných nepravidelností povrchu rohovky. Tradiční RGP čočky jsou v průměru mezi 8 a 10 mm. Novější intralimbální RGP čočky mají průměr 10,5 až 12 mm, což může zlepšit centraci a pokrytí rohovky,¹³⁸ ale na druhou stranu zvětšený průměr může činit potíže při jejich nasazování a odstranění. Piggyback kombinace (měkká kontaktní čočka pod RGP) a hybridní čočky (RGP centrum a měkká periferie kontaktní čočky) mohou zlepšit toleranci kontaktních čoček u pacientů s nesnášenlivostí jednoduché RGP čočky. Tam, kde tyto možnosti selžou, mohou být řešením korekce refrakční vady u keratokonu i sklerální a semi-sklerální RGP čočky, které mají vault povrchu rohovky a jsou použitelné pro téměř všechny tvary rohovky.¹⁴¹ Sklerální čočky chrání vidění u pacientů s pozdní fází ektatického onemocnění, zejména tam, kde technické překážky, jako je tenká periferní rohovka, tvoří limit pro transplantaci rohovky. I přes pokroky v kontaktních čočkách u keratokonu závislost na nich může být spojena s významným omezením kvality života.

CXL a refrakční chirurgie

Zesíťování kolagenu rohovky (CXL) představuje metodu, jejímž cílem je zpomalení nebo zastavení progresu ektatických onemocnění rohovky. Toto tvrzení je možné prokázat měřením zrakové ostrosti a zakřivení rohovky. CXL bez intervence jiného refrakčního výkonu vykazuje pouze minimální refrakční změny. Proto se ke zlepšení zrakové ostrosti používají i jiné metody, nejčastěji aplikace intrastromálních prstencových segmentů, laserová povrchová ablace rohovky metodou customizované fotorefrakční keratektomie (PRK), termální keratoplastika a implantace fakické nitrooční čočky. Cílem kombinovaných výkonů je korigovat nepravidelnosti tvaru a zakřivení rohovky, a tím zlepšit vidění pacienta.

Laserová povrchová ablace, PRK

Kombinace s CXL může umožnit bezpečné použití technik povrchové laserové ablace s cílem jemného doladění tvaru rohovky u keratokonu. Cílem simultánní kombinované léčby PRK následované provedením CXL je zlepšit BCVA snížením nepravidelného astigmatismu spíše než plná korekce sferocylindrické vady. Požadavkem je 400 µm reziduálního stromatu po ablaci, aby bylo umožněno bezpečné provedení CXL a redukováno nebezpečí nadměrné hypermetropické korekce v případě snížení sférického ekvivalentu vyvolaného CXL. Kombinovaná léčba má jasné výhody pro pohodlí pacienta (epitel je odstraněn pouze jednou), ale nebere v úvahu zlepšení pravidelnosti rohovky a BCVA, které by mohly být zlepšeny pouze samotným CXL. Kanellopoulos a kol.⁸³ analyzovali studii 198 očí léčených topografií navigovanou PRK bezprostředně po CXL (simultánní kombinované léčby) a dříve léčených¹³¹ očí, u kterých byla provedena topografií navigovaná PRK minimálně 6 měsíců po CXL (sekvenční kombinované léčby). Cílem bylo normalizovat rohovku korekcí nepravidelného astigmatismu a částečnou léčbou refrakční vady. Simultánní kombinovaná léčba vykazovala zlepšení v celé řadě parametrů: BCVA, pokles sférického ekvivalentu a střední keratometrie. Haze skóre bylo významně lepší při simultánní kombinované léčbě. Současné důkazy však neumožňují jasné doporučení pro simultánní kombinované CXL a PRK. Ale topografií vedená nebo wavefront řízená PRK je dobrou možností k řešení refrakce po stabilizaci rohovky po CXL. Pokud je BCVA dobrá, ale nekorigované vidění do dálky (UCVA) zůstává nedostačující, pak je vhodné doporučení pacienta ke korekci refrakce pomocí implantace fakické nitrooční čočky.

Autoři se domnívají, že je kontraproduktivní odstraňovat zesíťovanou tkáň rohovky pomocí topografií navigované PRK v pozdější době, protože potenciálně odstraníme i prospěšnou vrstvu zesíťované rohovky. Odstranění Bowmanovy vrstvy pomocí topografií navigované PRK může usnadnit průnik riboflavinu do stromatu rohovky a redukovat „odstínění“ UVA záření při průchodu před rohovku, což by vedlo k větší účinnosti CXL.⁸³

Intrastromální prstencové segmenty

Další možností ke korekci ektatické rohovky společně s technikou CXL je implantace intrakorneálních prstencových segmentů. Intrastromální prstencové segmenty (ICRS) jsou účinné při oploštění tvaru rohovky a zlepšení vidění u většiny pacientů s keratokonem, ale velikost účinku je velmi variabilní. Použití ICRS začleňuje různé techniky implantace ringů, různé druhy ICRS.⁵⁸ Mnoho lékařů používá menší průměr ICRS a femtosekundovým laserem asistovanou implantaci. Manuální implantace původních Intacs ICRS je určená spíše pro myopy než pro korekci keratokonu. Výhoda vytvoření kanálu femtosekundovým laserem spočívá v tom, že zajistí implantace ICRS.³⁰ Oploštění centrálního zakřivení po implantaci ICRS se zvyšuje s menším průměrem kroužku a větší tloušťkou segmentu. Nevýhodou implantace menšího průměru ringu je větší potenciál dysfotopsie. Trojúhelníkový profil použitý Ferrarou - Keraring je vhodný ke snížení rozptylu světla a prevenci dysfotopsie spojené s implantací ICRS. Implantace ICRS může být kombinována s CXL,^{29,161,40,24,45} přičemž je velmi důležitá sekvence ošetření: ICRS se jeví jako efektivnější pro zlepšení tvaru rohovky před CXL. Coskunseven a kol.²⁹ porovnávali kombinaci zákroků v zaměněné sekvenci. V první skupině bylo provedeno v prvním kroku CXL s následnou implantací ICRS (skupina 1), ve druhé skupině byla v prvním kroku provedena implantace ICRS s následným zpevněním rohovky pomocí CXL (skupina 2). Lepší funkční výsledky nejlépe korigované zrakové ostrosti do dálky (průměrně 7 měsíců sledování) vykazovala skupina 1 (zisk 3 řádků) než skupina skupina 2 (zisk 2 řádků). Stejně pořadí bylo zjištěno u manifestního astigmatismu (2,48 D cyl snížení ve skupině 1), (1,76 D cyl snížení ve skupině 2). Současné CXL a ICRS mohou být stejně účinné. Vincente a Boxer Wachler analyzovali ve tříleté retrospektivní studii výsledky léčby 14 očí, která zahrnovala transepiteliální CXL a implantaci Intacsů ve stejný den. Po zavedení Intacsů byla provedena CXL. Průměrná hodnota BCVA se zlepšila z 20/32 předoperačně na 20/25 pooperačně a třetí rok se významně zlepšily všechny keratometrické hodnoty. Autoři zjistili, že u pacientů s pokročilým keratokonem se více zlepšila BCVA, konečná hodnota BCVA však nebyla tak dobrá jako u méně pokročilého keratokonu.¹⁹¹ Pro stanovení optimálního intervalu mezi implantací ICRS a CXL v kombinované léčbě je zapotřebí více důkazů. Zajímavou variaci popsal Saelens

a kol.,¹¹¹ který aplikoval riboflavin injekcí do prestencového kanálku před transepiteliálním CXL. Implantovány byly intrakorneální prstencové segmenty Ferrara. Po implantaci prstencových segmentů byl použit roztok 0,1 % riboflavinu ve 20 % dextranu, který byl každé tři minuty aplikován na rohovku po dobu 25 minut a injekčně aplikován do intrastromálních kanálků. Během jednorozhodného sledování byla provedena explantace jednoho spodního kroužku z důvodu částečné extruze. Došlo ke zlepšení BCVA.¹⁶¹ Jště pořád existují mezery v datové základně pro tuto intervenci, avšak v současné době jsou k dispozici silné argumenty pro implantaci ICRS s korekcí tvaru keratokonické rohovky u pacientů s omezenou BCVA, zvláště jsou-li intolerovány kontaktní čočky. Protože moderní implantace ICRS má dobrý bezpečnostní profil a výsledky jsou lepší, je-li implantace ICRS provedena současně s nebo před CXL, další existující důkazy naznačují úlohu implantace ICRS v kombinaci s transepiteliálním CXL u pacientů se III. stadiem keratokonu nebo časným stádiem onemocnění, pokud se sníží vidění (BCVA 20/25) ve spojení s komou (43 mm). Ertan a kol. zjistili přídatný efekt transepiteliálního zesíťování po implantaci Intacsů. V rámci jejich studie bylo popsáno zlepšení UCVA, BCVA, astigmatismu a keratometrických hodnot v případech transepiteliálního zesíťování rohovky průměrně čtyři měsíce po implantaci ICRS.⁴⁵ Současné limity pro implantaci ICRS pravděpodobně nejlépe definují Coskunsevenova pachymetrická kritéria.³¹ Alió a kol.³ porovnávali výsledky CXL u progresivního keratokonu při použití standardní techniky (s odstraněním epitelu) a výsledky při tvorbě intrastromálních kapes po předcházející implantaci korneálního prstencového segmentu. Ve všech případech byly implantovány segmenty KeraRing pomocí femtosekundového laseru 3 až 12 měsíců před provedením CXL. Intrastromální kapsa byla vytvořena pomocí femtosekundového laseru v hloubce rohovky od 70 do 90 μm, riboflavin byl injekčně aplikován přímo do korneální kapsy a na rohovku bylo aplikováno UVA záření po dobu 20 minut. Alió se domnívá, že CXL s tvorbou intrastromální kapsy pro následnou infuzi riboflavinu je stejně účinná z hlediska korneálních a refrakčních změn u rohovky s keratokonem jako tradiční operace CXL s předcházejícím odstraněním epitelu, avšak s menší pooperační bolestivostí. Rizika infekce a zjizvení jsou přítomna u obou CXL technik, u kapsové techniky však navíc existuje možnost hlubší stromální infekce nebo zjizvení.³

Termální keratoplastika

Termální keratoplastika je zkoumána jako možná alternativa k implantaci ICRS a transplantaci rohovky pro hrubou korekci tvaru rohovky u pokročilého keratokonu. I když lze získat velké počáteční zlepšení tvaru rohovky, během jednoho roku je vidět téměř kompletní regrese. Kato a kol.⁸⁶ léčili 21 očí s pokročilým keratokonem pomocí topograficky navigované termální keratoplastiky. V současné době probíhají studie k určení míry regrese tvaru rohovky po termokeratoplastice modulovanou kombinací s CXL.⁵⁸

Fakická nitrooční čočka

Implantace měkké předněkomorové na duhovku fixované (iris-claw) fakické nitrooční čočky Artiflex po CXL je další možnou volbou vedoucí ke zlepšení zrakové ostrosti u pacientů s keratokonem. Pesando a kol.¹⁴³ publikovali 10letou retrospektivní studii ICL (Implantable Collamer lens, fakická nitrooční čočka), implantovaných hypermetropickým očím, kde k průměrné endoteliální buněčné ztrátě ve výši 4,7 % většinou dochází během několika prvních týdnů po implantaci a zbývající úbytek zůstává téměř beze změny. Izquierdo a kol. implantovali fakické nitrooční čočky šest měsíců po CXL do 11 očí keratokonem ve stadiu I (18,2 %) a ve stadiu II (81,8 %). U žádného oka nedošlo k progresi keratokonu. Pokles počtu endoteliálních buněk po 6 měsících nebyl statisticky významný u CXL, zatímco u fakické čočky byl 6 měsíců po implantaci přítomen statisticky významný pokles denzity buněk endotelu. Autoři zjistili, že implantace fakické nitrooční čočky po CXL u pacientů s keratokonem by měla obdobný refrakční efekt jako u oka bez keratokonu. CXL redukuje strmost rohovky a omezuje progresi keratokonu, a tím zlepšuje dva hlavní problémy, refrakční vadu a progresi onemocnění.⁷⁸ U pacientů se stabilním keratokonem a u pacientů s keratokonem, u nichž bylo dosaženo stabilizace stavu rohovky pomocí CXL je možná implantace fakické čočky ICL Visian.³² Řada pacientů, kterým byla implantována čočka ICL během období stability, může potřebovat CXL při progresi onemocnění v pozdějším stadiu.

Kombinace ICRS a implantace fakické čočky se z refrakčního hlediska jeví jako vysoce prediktabilní, zatímco refrakční efekt implantace ICRS je velmi variabilní. Z předchozích faktů je možné vyvodit algoritmus, že primárně je vhodná hrubší

korekce tvaru rohovky pomocí ICRS následována zpevněním rohovky pomocí CXL, je-li nutná další jemná korekce tvaru rohovky pomocí PRK zakončena korekcí zraku keratokonického oka pomocí implantace fakické nitrooční čočky u pacientů s II–III. stadiem keratokonu.⁵⁸

Komplikace CXL

CXL s aplikací riboflavinu a UVA zářením je již několik let léčebnou metodou progredujícího keratokonu zajišťující biomechanickou a biochemickou stabilizaci rohovkové tkáně.¹⁵² S narůstajícím počtem provedených studií stoupá i četnost výskytu komplikací.¹⁵² Existuje celá řada studií k prokázání účinnosti CXL, hodnocení výskytu komplikací a selhání této metody popisuje jen velmi málo z nich. Přesto tyto komplikace mohou být zásadní a ireverzibilní. Komplikace můžeme rozdělit do tří kategorií: komplikace přechodné (persistující epiteliální defekt, infekční a neinfekční keratitida), permanentní komplikace (rozvinuté stromální jizvení) a fatální komplikace (keratolýza s perforací rohovky).^{123,121,46}

Haze a jizvení

Při biomikroskopii štěrbinovou lampou po CXL můžeme nalézt typické zkalení rohovky (haze) různé intenzity od subepiteliálního zkalení až po těžké stromální zjizvení. Studie prokazují, že hloubku CXL lze sledovat podle demarkační linie v korneálním stromatu (přibližně v hloubce 300 µm) pomocí korneální topografie nebo konfokální mikroskopie¹⁷³ nebo klinicky na základě stupně zkalení rohovky při vyšetření na štěrbinové lampě, která je klinicky detekovatelná nejdříve dva měsíce po CXL.^{93,173} Herrmann a kol. popsali případ dočasného subepiteliálního zkalení rohovky po CXL u pacienta s keratokonem, který byl léčen topickými steroidy a u kterého haze vymizel v průběhu několika měsíců po zesíťování rohovky.⁷⁰ Mazzotta a kol.¹²¹ analyzovali případy stromálního zkalení po provedení CXL u keratokonu pomocí konfokální mikroskopie in vivo. Stromální haze se vyvíjel 2–3 měsíce po provedení CXL s rezistencí na topickou steroidní léčbu. Pomocí konfokální mikroskopie bylo prokázáno zvýšení denzity fibril v extracelulární matrix signifikantně vyšší u pacientů s rozvinutým keratokonem. Konfokální mikroskopii lze také zobrazit temné Vogtovy mikrostrie, které nejsou

detekovatelné u pacientů s časným stadiem keratokonu. Zkazení, pokud je dobře léčeno topickými steroidy bez konzervačních látek, trvá pouze 30–40 dnů. Předoperační konfokální analýza u pacientů mladších 20 let prokázala přítomnost jader nadměrně aktivovaných keratocytů v předním stromatu v hloubce 80 μm a tmavé mikrostrie síťovitého uspořádání u pacientů starších 20 let. U této skupiny pacientů byly při předoperačním vyšetření štěrbinovou lampou zjištěny rovněž výrazné Vogtovy strie, které můžeme považovat za rizikový faktor pro vznik rohovkových opacit po zesíťování rohovky.^{147,121} Raiskup a kol.¹⁴⁹ analyzovali rozvoj permanentního zjizvení korneálního stromatu po provedení CXL. Jejich soubor zahrnoval 163 očí u 127 pacientů s keratokonem ve stadiu 1–3 podle Krumeichovy klasifikace. 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).^{147,149} Jakkoliv je haze potenciální komplikací CXL zejména u rozvinuté keratektázie, vhodná pooperační medikamentózní terapie může redukovat možný trvalý pokles zraku.¹⁴⁹

Keratitis

Pro vznik korneální infekce hrají důležitou roli dva predisponující rizikové faktory: odstranění epitelu a použití terapeutické kontaktní čočky.²¹⁷ Zamora a kol.²¹⁷ popisují případ polymikrobiální keratitidy způsobené bakteriemi *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* a koaguláza negativními stafylokoky u pacienta, který podstoupil CXL pro keratokonus a dostavil se jeden den po operaci s bolestí a zarudnutím oka. Tento pacient přiznal, že si sejmul ochrannou kontaktní čočku a před opětovným nasazením se pokusil čočku vyčistit vložení do úst.²¹⁷ Kymionis a kol. popsali případ HSV (Herpes Simplex Virus) keratitidy a iritidy po CXL. Jejich diagnóza byla také potvrzena pomocí PCR analýzy slz. Navzdory rychlému zhojení epitelu do dvou dnů a zahájení lokálních steroidů, zaznamenali po dvou měsících mírnou centrální jizvu rohovky. Ve své kazuistice tak prokázal, že CXL může vyvolat herpetickou keratitidu s iritidou dokonce i u pacientů, kteří nemají v anamnéze herpetické onemocnění a pro dosažení příznivého výsledku je nezbytná časná diagnóza a náležitá léčba.¹⁰⁵ Navzdory rychlému uzavření epitelu do dvou dnů a zahájení lokálních

steroidů, zaznamenal mírnou centrální jizvu rohovky po dvou měsících. Podobný případ popisuje i Yuksel a kol.²¹⁶

Kymionis a kol představil také případ mladého muže, u kterého se během prvního pooperačního dne po provedení CXL pro léčbu iatrogenní keratektázie vyvinulo třetí stadium difuzní lamelární keratitidy (DLK). Po dvou týdnech intenzivní léčby topickými steroidy DLK ustoupila.¹⁰¹

Keratolýza a perforace rohovky

Mezi fatální komplikace zesíťování kolagenu rohovky patří keratolýza s perforací rohovky. Několik kazuistik popisuje proces keratolýzy po CXL pro přítomný keratokonus. Labiris a kol.¹⁰⁸ popsali jinak zdravého mladého muže s intolerancí kontaktních čoček, u něhož byla tloušťka rohovky po odstranění epitelu 407 μm . Pacientovi byl aplikován roztok 0,1 % riboflavinu s 20 % dextranem. První pooperační den se rozvinulo těžké zkalení rohovky s přítomností endoteliálních precipitátů a zánětlivých buněk v přední komoře oka. Hojení epitelu probíhalo velmi pomalu, progresivní ztenčování stromatu vedlo k descemetokele s následnou perforací rohovky dva měsíce po CXL.¹⁰⁸ Gokhale a Vemuganti⁵⁵ popisují případ akutní lýzy rohovky s perforací u pacienta s keratokonem po zesíťování kolagenu rohovky vlivem topického použití diklofenaku a proparakainu. Týden po CXL se rozvinula keratolýza rohovky s perforací, která byla zpočátku léčena bandáží tkáňovým lepidlem a aplikací kontaktní čočky s následnou keratoplastikou 12. den po CXL. Navzdory skutečnosti, že v literatuře nebyl prokázán žádný zjevný etiologický vztah mezi nesteroidními antirevmatiky (NSAID) a lýzou rohovky, několik autorů se pokoušelo toto tvrzení prokázat.¹³⁶ Potenciální vliv NSAID na keratocyty je dobře známý, a proto se NSAID nevyužívá jako standardní pooperační léčba po CXL.⁴⁶ Kromě toho Faschinger a kol.⁴⁶ popsali případ bilaterální keratolýzy po CXL u keratokonu u pacientů s Downovým syndromem, kde nebyla splněna nutná minimální tloušťka stromatu 400 μm . Jednalo se o ztenčení rohovky bez objektivních záznamů o progresi a pacient podstoupil CXL souběžně na obou očích. U pacienta vznikla keratolýza rohovky s perforací první týden po CXL na jednom oku a na druhém oku se rozvinula čtyři týdny po operaci. Pacient musel podstoupit urgentní keratoplastiku obou očí.⁴⁶ Eberwein a kol.³⁸ popisují případ

45letého pacienta s těžkým atopickým onemocněním a keratokonem, u kterého došlo ke keratolýze rohovky po CXL. Pacient následně podstoupil hlubokou přední lamelární keratoplastiku (DALK) pro subklinickou infekci virem Herpes simplex. Vzhledem k infekci bylo nezbytné provedení perforující keratoplastiky a nasazení intenzivní antivirové a imunosupresivní systémové léčby.³⁸ Uvedené fatální komplikace ireverzibilního poškození rohovky s následnou ztrátou vidění po CXL by měly vést lékaře k extrémní opatrnosti a pečlivému zvážení indikací k zesíťování rohovky a důkladné pooperační péči.

Denzita endoteliálních buněk

Ztráta denzity endoteliálních buněk vede ke snížení transparence rohovky v důsledku edému korneálního stromatu. Tato komplikace má za následek snížení zrakové ostrosti. Kymionis a kol.¹⁰⁶ popsali výsledky CXL u pacientů s tenkou rohovkou méně než 400 μm . Jejich soubor zahrnoval 14 očí u 12 pacientů s průměrnou tloušťkou rohovky $373,92 \pm 22,92 \mu\text{m}$ po odstranění epitelu. Po ročním sledování zjistili významný pokles denzity endoteliálních buněk z počtu $2733 \pm 180 \text{ buněk/mm}^2$ na $2441 \pm 400 \text{ buněk/mm}^2$.¹⁰⁶ Autoři popisují podmínky léčby s použitím isoosmolárního roztoku 0,1 % riboflavinu a 20 % dextransu, který mohl být zdrojem peroperační redukce edému korneálního stromatu, a dokonce i zrychleného ztenčování již tak tenké rohovky a poškození endoteliálních buněk. U pacientů byla přítomna hraniční tloušťka rohovky zjištěna až peroperačně po odstranění epitelu a ošetřena isoosmolárním roztokem 0,1 % riboflavinu s 20 % dextransem.^{7,54} Gokhale⁵⁴ popisuje případ závažného endoteliálního poškození po CXL u 37letého muže s progresivním keratokonem s tloušťkou rohovky více než 400 μm . Po abrazi epitelu byla rohovka zesíťována po dobu 25 minut za použití dextran-riboflavinu a UVA záření 370 nm s intenzitou ozáření $3,0 \text{ mW/cm}^2$. Jeden měsíc po léčbě CXL se u pacienta rozvinul masivní edém rohovky, který byl léčen 1 % prednisolonem a 1 % karboxymetylcelulózou 4krát denně po dobu 3 měsíců. I přes intenzivní léčbu na rohovce zůstala centrální jizva s následním snížením nekorigované zrakové ostrosti na počítání prstů. Hustota buněk byla po rozlišení 1776 buněk/mm^2 ve srovnání s 2978 buněk/mm^2 druhého oka.⁵⁴

CÍL PRÁCE

Cílem naší práce je porovnání jednotlivých parametrů u modifikace léčby progredujícího keratokonu zesíťováním kolagenu rohovky pomocí riboflavinu a UVA záření.

CXL je bezpečný výkon, který se provádí již několik let. Odstranění rohovkového epitelu zajišťuje vysoký průnik riboflavinu a dobré nasycení rohovkového stromatu, což je velmi důležité pro další stabilitu rohovky po iradiaci UVA zářením. Na druhou stranu odstranění epitelu rohovky před zákrokem může způsobit pooperačně i výraznou bolest a závažné komplikace s následným snížením zrakové ostrosti. Aby se předešlo vzniku komplikací provádí někteří lékaři CXL bez abraze epitelu. U našich pacientů s progredujícím keratokonem byl corneal cross-linking proveden s odstraněním epitelu. U 15 pacientů byla abraze epitelu provedena v dolní polovině rohovky, tedy jen v oblasti keratokonu a 20 pacientů byla abraze epitelu rohovky cirkulární v rozsahu 8–9 mm. 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. Sledovací doba byla v obou skupinách 12 měsíců 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.

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. 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. Hodnotili jsme topografické změny jednotlivých parametrů pomocí Scheimpflugova zobrazení na Pentacamu před CXL a 12 měsíců po operaci.

Hodnotili jsme 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. Bezpečnost CXL je pořád velmi sledovaným parametrem, aby nedošlo k poškození endotelu rohovky, čočky a sítnice. Vliv UVA záření na endotel rohovky jsme hodnotili sledováním počtu endotelových buněk před CXL a rok po operaci.

Vzhledem k provedení CXL s odstraněním epitelu rohovky lze očekávat různé hojení epitelu. Jednou z možných komplikací je také vznik korneálního zkalení (haze). Jeho vznik a vývoj jsme sledovali na štěrbinové lapmě a pomocí Scheimpflugova zobrazení na Pentacamu.

U pacientů v obou skupinách jsme srovnávali stupeň bolesti a četnost výskytu komplikací (počet dní hojení defektu epitelu, haze, infekce, stupeň bolesti pooperačně).

METODIKA

Soubor pacientů

V naší retrospektivní, nerandomizované studii bylo do souboru zařazeno 35 očí 28 pacientů s progresivním keratokonem v 1.-3. stadiu onemocnění podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace.

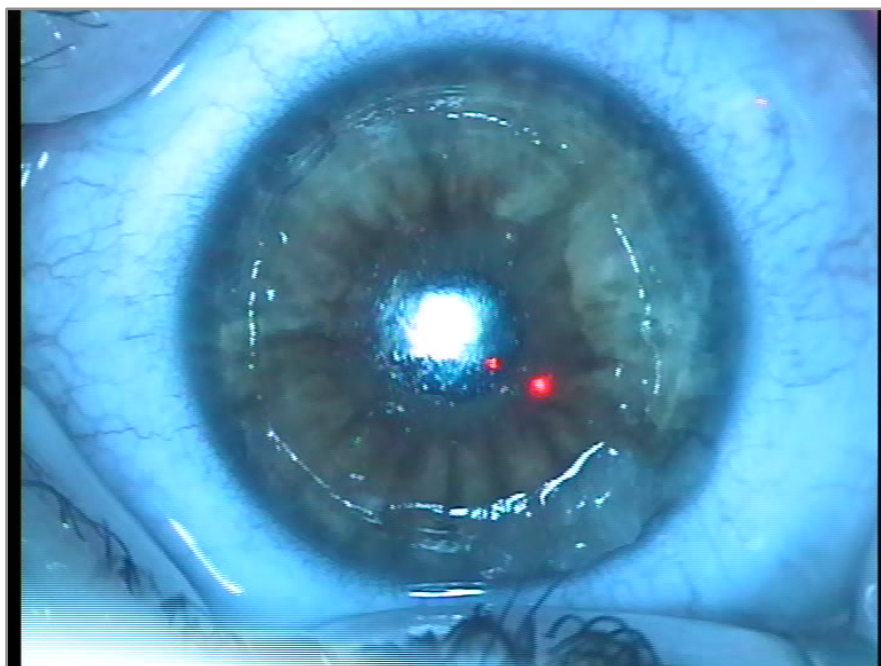
Náš soubor 35 očí jsme rozdělili do dvou skupin, do skupiny A a skupiny B podle tvaru a velikosti epitelové abraze. (obr. 2, 3) Skupina A zahrnuje 15 očí s abrazí epitelu rohovky v dolní polovině velikosti 8 mm. Skupina B zahrnuje 20 očí s plošným odstraněním epitelu rohovky kruhovitěho tvaru velikosti 8–9 mm.

Postup při provedení zesíťování rohovky byl v obou skupinách stejný.

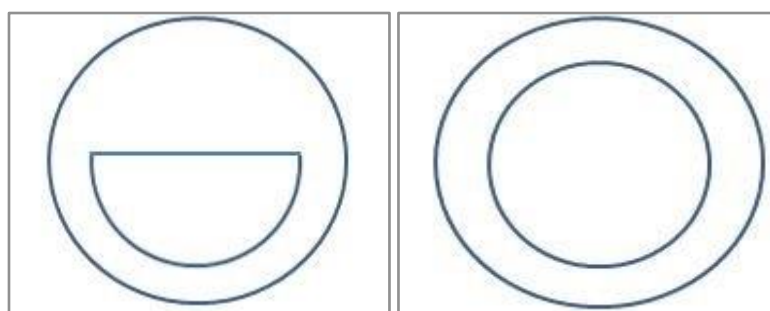
Skupina A zahrnuje 15 očí (7 OD, 8 OS) 12 pacientů. Skupina B obsahuje 20 očí (9 OD, 11 OS) 16 pacientů. Medián věku léčených pacientů ve skupině A byl 22 let, ve skupině B 24 let.

Skupina A zahrnuje pacienty, u kterých byl corneal cross-linking proveden v době

od 09/2008 až 07/2010. Skupina B zahrnuje pacienty po zesíťování kolagenu rohovky provedeném na našem pracovišti v intervalu od 05/2010 až 02/2012. Sledovací doba skupiny A i skupiny B je jeden rok po provedení CXL.



Obr. 2 Cirkulární abraze epitelu rohovky v průměru 8-9 mm



Schematické znázornění tvaru abraze epitelu rohovky ve skupině A a ve skupině B

Obr. 3 Abraze v dolní polovině rohovky v rozsahu 8 mm ve skupině A, cirkulární abraze epitelu rohovky v průměru 8-9 mm ve skupině B

Anamnéza

Anamnéza pacientů s keratokonem je důležitá pro posouzení rizika progresse onemocnění. U vysoce rizikových pacientů, kde očekáváme rychlou progresi ektázie během krátké doby, bychom se měli zaměřit na velmi důkladné a častější kontroly. U pacientů s nízkým rizikem progresse onemocnění postačí sledování jednou ročně.

Při posuzování rizika progresse keratokonu bychom měli mít na paměti několik následujících parametrů: věk, pohlaví, alergie, systémové nemoci, pravidelně užívané léky, sport a záliby, kouření a případně graviditu.

V období do 18 let věku je poměr mužů a žen 6:1, v tomto věku je keratokonus agresivnější a možnost progresse vyšší než v ostatních věkových skupinách.²¹

Náš soubor zahrnuje 35 očí 28 pacientů. Jedná se o 24 mužů a 4 ženy v obou skupinách (A a B) ve věku 16-36 let, průměrně 25 let. Soubor jsme rozdělili do dvou skupin. Skupina A zahrnuje 15 očí průměrného věku 23,7+/-6,5 let, medián: 22 let, minimální věk 16 let, maximální 34 let. Skupina B zahrnuje 20 očí průměrného věku 25,1+/-5,7, medián: 24 let, minimální věk 16 let, maximální 36 let. 5 pacientů bylo ve věku do 18 let (včetně), z toho 4 muži a 1 žena. Tyto pacienty jsme považovali za pacienty s „vyšším rizikem“ progresse onemocnění. Těchto 5 pacientů mělo v anamnéze současně atopický ekzém. U pacientů s atopickým ekzémem lze pozorovat rychlejší progresi ektázie, která by mohly být podpořena prodlouženým systémovým užíváním kortikosteroidů, které mění biomechanické vlastnosti rohovky a svým účinkem zajišťují redukci zpevnění.¹⁸⁶

Pravidelné užívání jiných steroidů u pacientů s chronickými systémovými zánětlivými nemocemi nebo pravidelný příjem hormonů, např. estrogenů (kontraktiv) a anabolik (vrcholoví sportovci, kulturisti), může spustit progresi ektázie u pacientů s predispozicí na dané onemocnění rohovky.¹⁵⁰ V našem souboru byly 4 ženy ve věku 16-27 let. 3 pacientky užívaly hormonální kontraceptiva. Nejen hormonální antikoncepce, ale také hormonální změny během těhotenství mohou negativně ovlivnit biomechaniku rohovky, a proto je třeba pečlivě monitorovat těhotné ženy s diagnostikovaným keratokonem nebo po refrakční operaci rohovky a v případě progresse by pacientka po porodu měla podstoupit CXL.¹² Během těhotenství neprovádíme CXL vzhledem k možným

pooperačním komplikacím (např. infekce, rozvolnění rohovky), které by vyžadovaly systémovou terapii nebo pomocné postupy vyžadující celkovou anestezii. Pacientky musíme informovat, že i přes provedení CXL může dojít k další progresi ektazie v důsledku změn hladiny estrogenu během příštího těhotenství.⁶³

Rizikovým faktorem pro progresi stávajícího ektatického onemocnění rohovky mohou být i některé sporty a zájmové činnosti vedoucí k pravidelnému déletrvajcímu zvýšení nitroočního tlaku (kulturistika nebo vzpírání, jóga s pozicemi hlavou dolů, hraní na dechové nástroje).⁸⁴

Ptáme-li se pacientů na jejich celkové onemocnění, pacienty s např. diabetes mellitus považujeme za nízko rizikové a atopickým ekzémem za vysoko rizikové ve vztahu k progresi keratokonu. Diabetes mellitus způsobuje přirozený cross-linking v tkáních. Ochranný účinek manifestního diabetu lze vysvětlit indukci zesíťovací vazby ve stromatu, která brání biomechanickému oslabení rohovky.^{149,189} V našem souboru diabetes mellitus neměl žádný pacient. Některé návyky pacientů jako např. kouření mají také vliv na progresi keratokonu. U kuřáků je pozorována ztráta elasticity kůže a krevních cév.^{143,22} Cigaretový kouř obsahuje toxické látky, které mohou vyvolat chemický cross-linking rohovky. Kouření pro jeho prokázaný kancerózní vliv nelze doporučovat jako ochranný faktor před progresí keratokonu. V našem souboru byl kuřákem pouze jeden pacient.

Indikační kritéria k provedení CXL

Ne všechny rohovky s keratokonem jsou vhodné k provedení CXL. Proto je nutné definovat parametry, které indikují progresi keratokonu za určitou dobu. V našem souboru byla progresse keratokonu s indikací ke cross-linkingu kolagenu rohovky definována podle Pentacamu při zvýšení K_{max} v apexu keratokonické rohovky o 1 dioptrii (D) za jeden rok, zhoršení zrakové ostrosti nebo potřeba aplikace nové kontaktní čočky více než jednou za dva roky. Dále jsme indikovali CXL, pokud byla zjištěna alespoň jedna z následujících změn během 24 měsíců: zvýšení nejstrmějšího keratometrického měření o 1 D nebo více, zvýšení manifestního cylindru o 1 D nebo více, zvýšení manifestního refrakčního

sférického ekvivalentu o 0,5 D nebo více. Indikační kritéria pro zařazení do studie zahrnovala keratokonus s dokumentovanou progresí, v prvním až třetím stadiu keratokonu podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace (tab. 2), dosaženou nejlépe korigovanou zrakovou ostrostí do dálky (BCVA) v brýlové korekci 0,4 (decimální hodnota na Snellenových optotypech), minimální tloušťkou rohovky v místě apexu keratokonu 400 μm . Do studie byli zahrnuti pacienti, u kterých bylo provedeno zesíťování rohovky bez jiného refrakčního zákroku před provedením CXL nebo po něm. Ze studie byli vyloučeni pacienti, kteří měli v anamnéze operaci rohovky, tloušťku rohovky na základě pachymetrického vyšetření nižší než 400 μm , výskyt patologie očního povrchu (centrální jizvy a opacity rohovky, těžká porucha slzného filmu), těhotné nebo kojící pacientky. K vyřazovacím kritériím pro provedení CXL dále patřila autoimunitní systémová onemocnění, herpetická oční onemocnění v anamnéze a hustota endoteliálních buněk pod 2000 buněk/ mm^2 . Všichni pacienti byly před zákrokem pečlivě informovány o všech přínosech i rizicích spojených s provedením zákroku a podepsali informovaný souhlas s provedením operace.

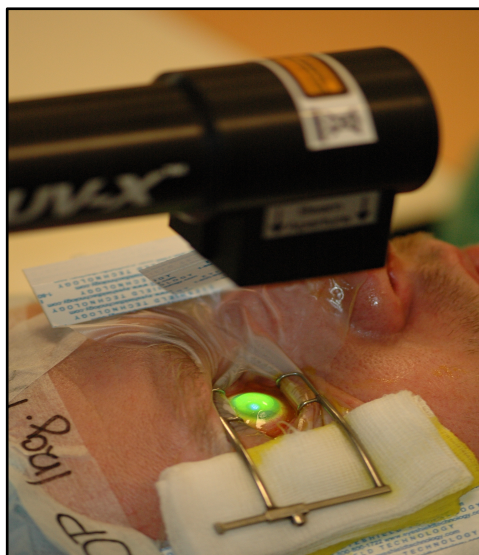
| Amslerova-Krumeichova klasifikace | |
|-----------------------------------|---|
| Stadium I | Excentrické rohovkové zestržení Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus <5 D Poloměr zakřivení ≤ 48 D Vogtovy strie Absence jizvení |
| Stadium II | Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus 5 D-8 D Poloměr zakřivení ≤ 53 D Jizvení ne |
| Stadium III | CCT ≥ 400 μm Indukovaná myopie a/nebo astigmatismus 8 D-10 D Poloměr zakřivení >53 D Absence jizvení |
| Stadium IV | CCT = 300-400 μm Neměřitelná refrakce Poloměr zakřivení >55 D Centrální jizvení, perforace CCT <200 μm |

Tab. 2 Amslerova-Krumeichova klasifikace keratokonu

Přístrojová měření

U všech pacientů před zesíťováním rohovky a po něm byla provedena následující vyšetření: měření objektivní refrakce autorefraktometrem v dioptriích (Acuitus 5015, Carl Zeiss, Německo), měření nitroočního tlaku bezkontaktním tonometrem v mmHg (Topcon CT 80A, Topcon Medical System, Oakland, USA), vyšetření nekorigované zrakové ostrosti (UCVA) a nejlépe korigované zrakové ostrosti (BCVA) v brýlové korekci v decimálních hodnotách měřené na Snellenově optotypu. Keratometrické hodnoty K_1 , K_2 , K_{\max} (optická mohutnost ve strmém a plochém meridiánu a v nejstrmějším místě rohovky) uvedené v dioptriích byly získány měřením na Keratotopografu Oculus na bázi Placidova disku (Oculus Keratotopograf 2, Německo) a pomocí optické tomografie na bázi Scheimpflugova zobrazení na přístroji Pentacam (Pentacam Classic, Oculus, Wetzlar, Německo). Na Pentacamu byla sledována tloušťka rohovky v jejím nejtenčím místě, elevační změny předního a zadního povrchu rohovky. Hodnoty jsou uváděny v mikrometrech. Topografický pohyb centra rohovky před zákrokem a po něm byl sledován pomocí os x a y ve vztahu k hodnotám K_{\max} a pachymetrickému měření v nejtenčím místě na rohovce. Hodnoty jsou uváděny v milimetrech.

Spekulární mikroskopie byla provedena přístrojem Topcon SP-3000P a uváděna v četnosti buněk/mm² (Topcon Medical System, Oakland, USA). Vznik a vývoj haze byl sledován na štěrbinové lampě a pomocí Scheimpflugova zobrazení na Pentacamu. CXL bylo provedeno pomocí přístroje UV-XTM 1000 (IROC GmbH, Curych, Švýcarsko). (obr. 4)



Obr. 4 Corneal cross-linking přístrojem UV-X™ 1000 (IROC GmbH, Curych, Švýcarsko)

Peroperačně byla tloušťka rohovky měřena ultrazvukovou pachymetrií přístrojem Pachy Meter (Tomey SP 3000, USA) v mikrometrech. (obr. 5) Pro porovnání stupně bolestivosti po zákroku byl použit dotazník hodnotící subjektivní vnímání diskomfortu pacientem. Výsledky jsou zaznamenány v stupnici 1–5.



Obr. 5 Peroperační ultrazvuková pachymetrie přístrojem Pachy Meter (Tomey SP 3000, USA)

Klinická vyšetření

Před zákrokem bylo provedeno vstupní vyšetření, které zahrnovalo u všech pacientů vyplnění osobní anamnézy se zaměřením na oční, rodinnou a celkovou anamnézu, vyšetření slzní produkce Schirmerovým testem, měření objektivní refrakce a nitroočního tlaku. Nitrooční tlak v naší studii nebyl hodnocen.

Při vyšetření zrakové ostrosti byla zaznamenána nekorigovaná (UCVA) a nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA) v brýlové korekci. Vyšetření zrakové ostrosti bylo provedeno na Snellenových optotypech, výsledky vyšetření zrakové ostrosti jsou uvedeny v decimálních hodnotách Snellenových řádků. Předoperační vyšetření zahrnovalo taktéž u všech pacientů vyšetření zadního segmentu oka v arteficiální mydriáze a posouzení biomikroskopických známek keratokonu na štěrbinové lampě.

Při vyšetření příznaků keratokonu jsme zaznamenali přítomnost Vogtových strií. Vogtovy strie jsou série jemných pruhů bělavého zbarvení ve stromatu a v Descemetové membráně.^{196,133,134,62} Důsledkem progresivní ztráty lamel dochází k rupturám Descemetovy membrány v apexu rohovkového konu s následným zašednutím a prosáknutím rohovkového stromatu. Strie jsou nejvíce lokalizovány v apexu rohovkového konu a jsou orientovány vertikálně nebo v meridiánu největšího zakřivení. Jsou dobře patrné při vyšetření na štěrbinové lampě v tangenciálním osvětlení. Porovnali jsme četnost výskytu Vogtových strií ve skupině A a ve skupině B.

Po provedení zesíťování rohovky bylo sledováno vnímání bolestivosti po odstranění epitelu, počet dní hojení defektu korneálního epitelu, korneální zkalení (haze) a četnost výskytu dalších komplikací: komplikace přechodné (persistující epiteliální defekt, infekční a neinfekční keratitida), permanentní komplikace (rozvinuté stromální jizvení) a fatální komplikace (keratolýza s perforací rohovky). Ve skupině A byl epitel rohovky odstraněn jen v její dolní polovině, ve skupině B cirkulárně v rozsahu 8 mm. Porovnali jsme intenzitu vnímání bolesti, počet dní reepitalizace rohovky, četnost výskytu haze a dalších komplikací. Předpokládali jsme menší bolestivost, rychlejší hojení a nižší četnost výskytu komplikací u pacientů s poloviční abrazí korneálního epitelu (skupina A).

V případě výskytu haze bylo přítomné korneální zkalení verifikováno

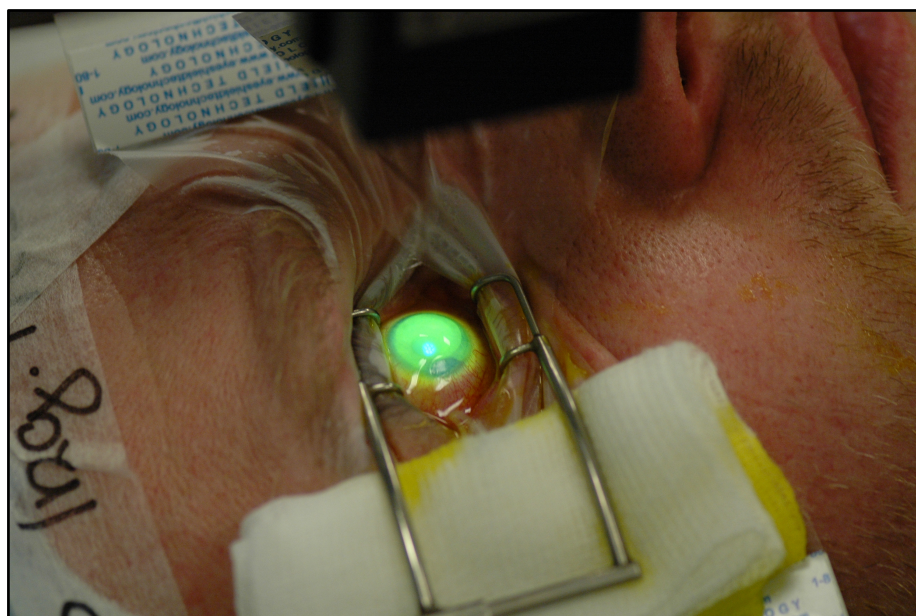
Scheimpflugovým zobrazením. Topografické vyšetření rohovky bylo provedeno za pomoci Scheimpflugova zobrazení přístrojem Pentacam. Pentacam monitoruje a koriguje vliv mimovolných očních pohybů. Kromě jiných funkcí, tento přístroj nabízí software k detekci a hodnocení progresu keratokonu, umožňuje také vyloučit pacienty nevhodné pro rohovkový refrakční zákrok např. kvůli počínajícímu keratokonu. Měření progredujícího keratokonu bylo provedeno v režimu Best Fit Toric Ellipsoid (BFTE). Polohu konu je možné určit pouze výškovým zobrazením na elevační mapě. Elevační mapy mohou být zobrazeny za pomoci různých referenčních těles buď v režimu Best Fit Sphere (BFS), nebo Best Fit Toric Ellipsoid (BFTE). Nejlepší zobrazení, při kterém lze najít keratokonus, je použití zobrazení s referenčním tělesem BFS a nejlépe je možné zhodnocení skutečné výšky konu za použití BFTE. Topografické změny na Pentacamu byly hodnoceny před CXL a 1 měsíc, 3, 6 a 12 měsíců po zesíťování rohovky v obou skupinách. Vyhodnoceny byly parametry astigmatismu, průměrné hodnoty keratometrie, maximální simulované keratometrické hodnoty (K_{max}), elevační změny na předním a zadním povrchu rohovky, pachymetrické změny v nejtenčím místě rohovky, topografický pohyb apexu keratokonu před zákrokem a po něm. Tyto parametry byly porovnány ve skupině A a ve skupině B. Při hodnocení výše uvedených topografických parametrů po CXL jsme nepředpokládali stejnou účinnost zesíťování rohovky v obou skupinách. Kromě Scheimpflugova zobrazení bylo u vstupního vyšetření provedeno topografické vyšetření přístrojem Keratograph, Oculus, Německo. Tento přístroj měří na bázi Placidova disku. Obsahuje terč soustředných kružnic, které se promítají na přední plochu rohovky. Keratograph na rozdíl od Pentacamu měří a zobrazuje pouze přední plochu rohovky. V našem souboru bylo porovnáno, jak koreluje hodnoty keratometrií v plochém a strmém meridiánu, hodnoty astigmatismu a hodnoty ploché osy astigmatismu získané měřením přední plochy rohovky z Pentacamu a Keratografu před CXL a rok po něm v obou skupinách. Bezpečnost CXL hraje klíčovou roli ve vztahu k poškození endotelu rohovky, čočky a sítnice. Při experimentech na zvířatech bylo zjištěno, že práh poškození endoteliálních buněk při 30minutovém ozáření UVA bez fotosenzibilizátoru je 4 mW/cm^2 .²¹⁴ Při CXL za pomoci riboflavinu a UVA záření se po aplikaci riboflavinu používá intenzita ozáření 3 mW/cm^2 . Počet endotelových buněk jsme

měřili spekulárním mikroskopem (SP 3000 P, Topcon) před operací a rok po ní a byl vyhodnocen úbytek počtu buněk endotelu v obou skupinách.

Provedení CXL

CXL s odstraněním rohovkového epitelu u rohovky >400 μm

Corneal cross-inking je ambulantní zákrok, který se provádí za sterilních podmínek na operačním sále. Na naší klinice stejně jako na většině pracovišť je používáno provedení CXL podle drážďanského protokolu. Na ozáření rohovky jsme použili ozařovací systém UV-XTM 1000, IROC GmbH, Curych, Švýcarsko. Tento ozařovací přístroj pracuje na principu emisních UV diod. Poskytuje homogenní ozařovací sílu 3 mW/cm² na kruhovou plochu rohovky o průměru 8 mm.(obr. 6) Ozařovaná je pouze centrální plocha rohovky. Velikost abraze zajišťuje dostatečnou plochu pro expozici UVA záření a současně chrání limbální kmenové buňky, které jsou tak chráněny před radičním poškozením.

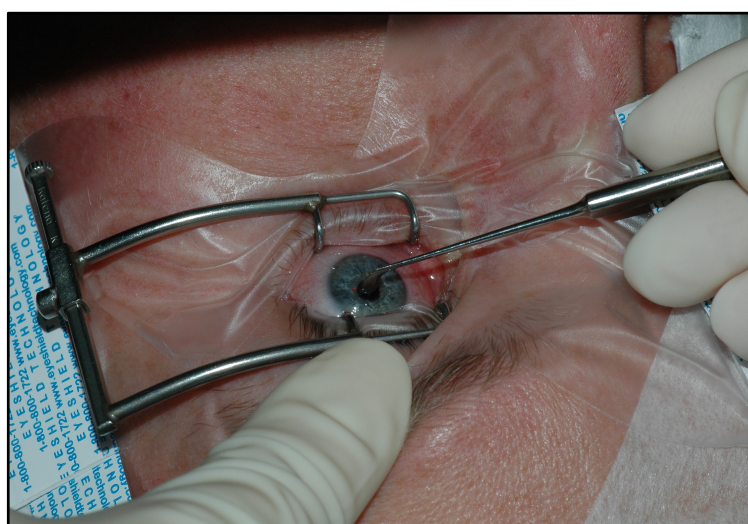


Obr. 6 Ozařovaná centrální plocha rohovky ozařovacím systémem UV-XTM 1000, IROC GmbH, Curych, Švýcarsko. Poskytuje homogenní ozařovací sílu 3 mW/cm² na kruhovou plochu rohovky o průměru 8 mm

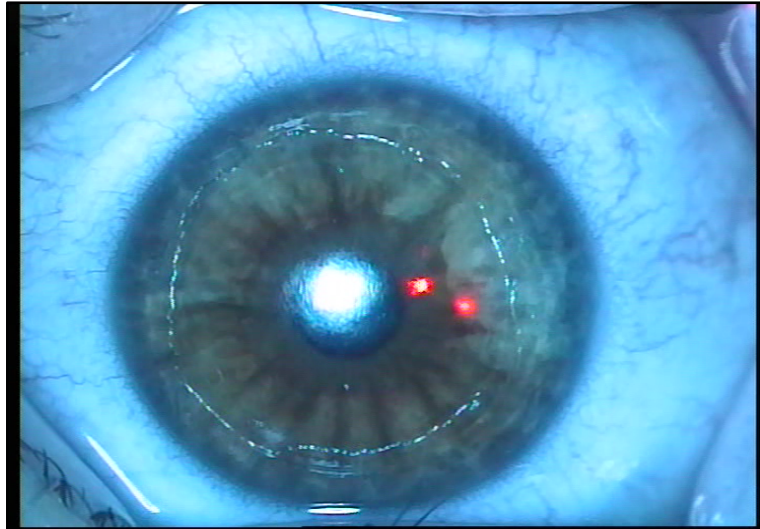
K biomechanickému zvýšení pevnosti rohovky při UVA ozařování dochází po 15 minutách a po 45 minutách již k dalšímu zpevnění rohovkové tkáně nedochází. Studie o závislosti biomechanického účinku na době ozařování v rozsahu od 5 minut do 60 minut při síle záření 3 mW/cm^2 označila jako optimální hodnotu 30 minut.²

Při corneal cross-linkingu se během výkonu na rohovku aplikuje fotosenzibilizační látka, kterou je riboflavin (vitamin B₂). V kombinaci s ultrafialovým zářením A o vlnové délce 365 nm vzniká interakce vyvolávající tvorbu reaktivních forem kyslíku, které vedou k vytvoření kovalentních vazeb mezi molekulami kolagenu a k následnému biomechanickému zpevnění rohovky.

Třicet minut před provedením corneal cross-linkingu jsme pacientovi podali léky proti bolesti. Pokud byl pacient výrazně neklidný, podali jsme přípravky na zklidnění. 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. (obr. 7, 8)



Obr. 7 Mechanická abraze epitelu rohovky



Obr. 8 Kruhová abraze epitelu rohovky 8 mm

Po odstranění epitelu rohovky se zlepší průnik riboflavinu do stromatu rohovky a rohovka je saturována fotosenzibilizační látkou, která absorbuje UVA záření. 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. (obr. 9)



Obr. 9 Instilace 0,1 % riboflavinu na rohovku

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. Je možné použít isoosmolární nebo hypoosmolární roztok riboflavinu. Bezprostředně před ozářením jsme znovu změřili tloušťku rohovky. Je-li tloušťka rohovky po abrazi rohovkového epitelu větší než 400 μm , používá se roztok riboflavinu isoosmolární, je-li menší než 400 μm , používá se roztok hypoosmolární. Aplikace vhodného roztoku riboflavinu je velmi důležitá pro ochranu endotelu 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/cm^2 . Během ozařování jsme na rohovku aplikovali riboflavin ve formě kapek každé tři minuty. Ozařování trvá 30 minut. Během něj pacient fixuje světelnou diodu sondy a lékař kontroluje centrality ozařovacího svazku. (obr. 10)



Obr. 10 Deepitelizována centrální plocha rohovky ozářena UVA zářením o vlnové délce 370 nm a intenzitě 3 mW/cm^2 , pacient fixuje světelnou diodu sondy, lékař kontroluje centrality ozařovacího svazku

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, zaznamenali subjektivní vnímání bolestivosti po zákroku a počet dní hojení epitelu rohovky. Další kontroly byly provedeny 1, 3, 6 a 12 měsíců po zákroku, následně pacienti přicházeli na kontrolu po jednom roce.

CXL s odstraněním rohovkového epitelu u rohovky <400 μm

U pokročilého keratokonu se tloušťka rohovkového stromatu zmenšuje, rohovka se postupně ztenčuje. Hraniční hodnota tloušťky deepitelizované 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 . Hypoosmolární roztok riboflavinu neobsahuje dextran, který u vodního roztoku riboflavinu zamezuje otoku rohovky. Aplikace hypoosmolárního roztoku riboflavinu ochránila zesíťovanou rohovku před vznikem stromálních jizev.^{150,152} I indikační kritéria k CXL mají svá omezení. Zpevnění rohovky se může provést pouze v případech, kdy je tloušťka rohovkového stromatu ≥ 320 μm před bobtnáním rohovky pomocí hypoosmolárního roztoku riboflavinu. V našem souboru byli tři pacienti ve skupině B léčeni za použití hypoosmolárního riboflavinu. Ve skupině A byl peroperačně u všech pacientů aplikován isoosmolární roztok riboflavinu. U pacientů s tenkou rohovkou jsme předpokládali vyšší výskyt komplikací a menší účinek zesíťování rohovky s možnou progresí onemocnění.

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, korneálního 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 krabičkový 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 $P < 0,05$.

VÝSLEDKY

Poznámka: skupina A - červená, skupina B – modrá

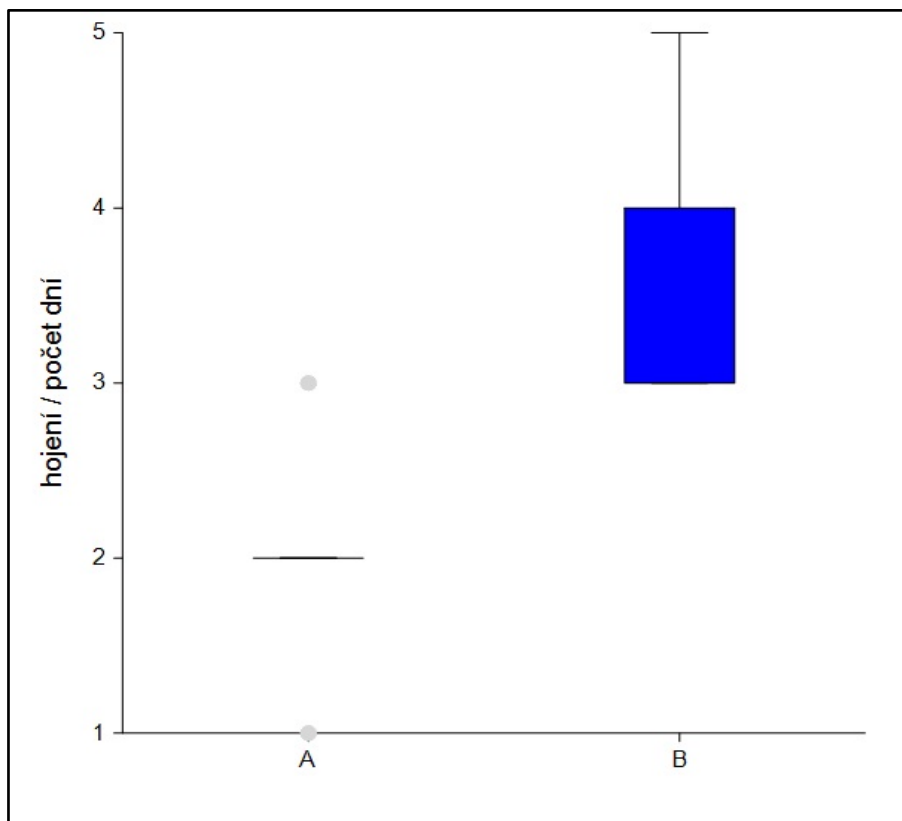
Ve skupině A bylo hodnoceno 15 očí, u kterých bylo zesíťování rohovky provedeno s odstraněním epitelu v dolní polovině rohovky a ve skupině B bylo hodnoceno 20 očí s cirkulární abrazí rohovkového epitelu v rozsahu 8 mm. Průměrný věk pacientů ve skupině A byl $23,7 \pm 6,5$ let. Průměrný věk pacientů ve skupině B byl $25,1 \pm 5,7$ let. Jednalo se o pacienty v prvním až třetím stadiu keratokonu podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace.

Hojení epitelu

Průměrná doba hojení rohovkového epitelu po abrazi byla zaznamenána při denních kontrolách pacientů do doby ukončení epitelizace a odstranění terapeutické kontaktní čočky. Ve skupině A byla průměrná doba hojení rohovkového epitelu $2,00 \pm 0,65$ dnů, průměrná doba reepitelizace rohovky ve skupině B byla $3,85 \pm 0,74$ dnů. Mezi skupinami byl nalezen statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,001$. (tab. 3, graf 1)

| hojení epitelu | skupina A | skupina B |
|----------------|-----------|-----------|
| počet dní | | |
| průměr | 2,00 | 3,85 |
| SD | 0,65 | 0,74 |
| medián | 2 | 4 |
| min | 1 | 3 |
| max | 3 | 5 |

Tab. 3 Počet dní hojení epitelu rohovky, skupina A a skupina B



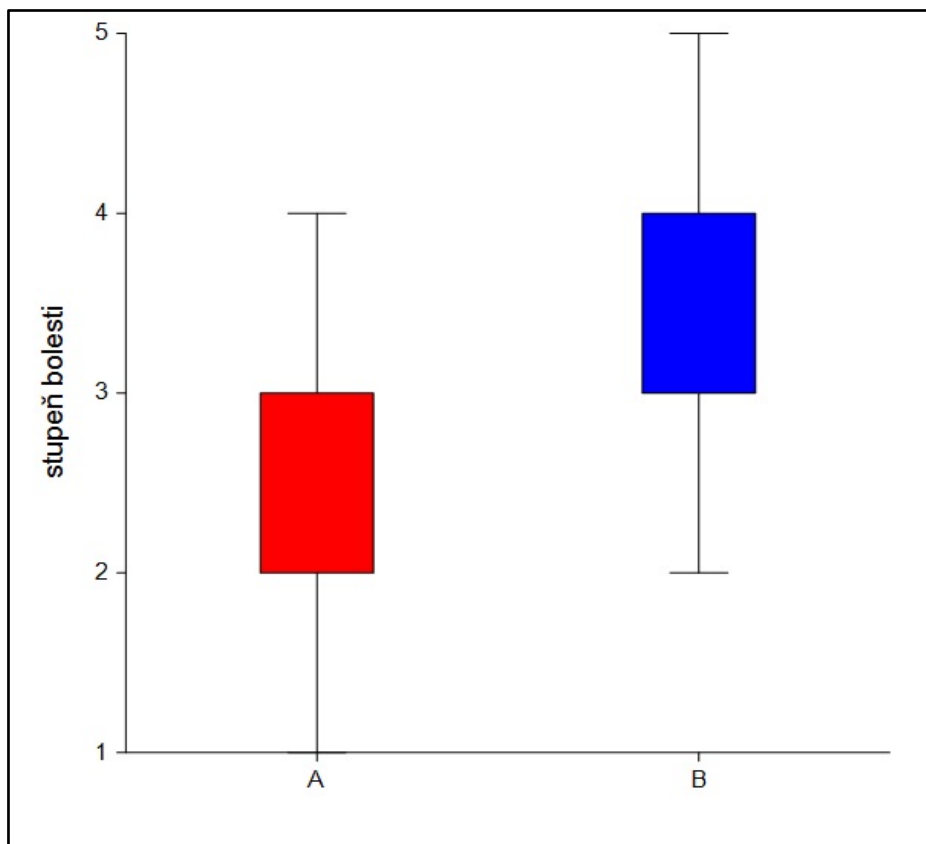
Graf 1 Počet dní hojení epitelu rohovky, skupina A a skupina B

Intenzita vnímání bolesti

Intenzita vnímání bolesti byla získána na základě dotazníku vyplněného pacientem a vyhodnocena na stupnici o škále 1-5. 1. stupeň – velmi slabá, 2. stupeň – slabá, 3. stupeň – středně silná, 4. stupeň – silná, 5. stupeň – velmi silná. Intenzita vnímání bolesti ve skupině A byla průměrně na stupni $2,26 \pm 0,70$, ve skupině B na stupni $3,40 \pm 0,75$. Mezi skupinami byl nalezen statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,001$. (tab. 4, graf 2)

| vnímání bolesti | skupina A | skupina B |
|-----------------|-----------|-----------|
| stupeň 1-5 | | |
| průměr | 2,26 | 3,40 |
| SD | 0,70 | 0,75 |
| medián | 2 | 3 |
| min | 1 | 2 |
| max | 4 | 5 |

Tab. 4 Stupeň vnímání bolesti během hojení epitelu rohovky, skupina A a skupina B



Graf 2 Stupeň vnímání bolesti během hojení epitelu rohovky, skupina A a skupina B

Vogtovy strie a korneální zkalení

Na štěrbinové lampě byla zjištěna přítomnost Vogtových strií. Ve skupině A bylo 5 očí v 1. stadiu keratokonu, 6 očí ve 2. stadiu a 4 oči ve 3. stadiu keratokonu. Ve skupině B byly 2 oči v 1. stadiu keratokonu, 16 očí ve 2. stadiu a 2 oči ve 3. stadiu keratokonu. Všechny oči měly před CXL transparentní rohovku, u 5 očí se v době před CXL vyskytovaly Vogtovy strie různé intenzity a četnosti. Ve skupině A u 3 očí, ve skupině B u 2 očí. Po CXL se rozvinul haze subepiteliálně a v hlubších stromálních vrstvách. Poslední vyšetření u všech pacientů bylo provedeno 1 rok po CXL. V jednotlivých skupinách ani mezi skupinami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ($p=0,094$). Nebyl hodnocen typ provedené abraze a jeho vliv na četnost výskytu korneálního zkalení. Po adekvátní lokální steroidní léčbě po 4 týdnech ustoupil u všech pacientů.

Počet endotelových buněk

Spekulární mikroskopie byla provedena přístrojem Topcon SP-3000P (Topcon Medical System, Oakland, USA) a uváděna v četnosti buněk/mm². Ve skupině A byla před CXL průměrná hodnota počtu endotelových buněk $2784 \pm 232,94/\text{mm}^2$, 12 měsíců po CXL $2717,21 \pm 220,34/\text{mm}^2$. Ve skupině B byla průměrná hodnota počtu endotelových buněk $2817,89 \pm 220,65/\text{mm}^2$ a 12 měsíců po CXL byla průměrná hodnota počtu endotelových buněk $2736,36 \pm 125,01/\text{mm}^2$. Po zesíťování rohovky pro skupinu A došlo ke statisticky významnému snížení počtu endoteliálních buněk ECC ($p < 0,001$) o 2,4%, ve skupině B nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ($p=0,976$).

Nekorigovaná zraková ostrost (UCVA)

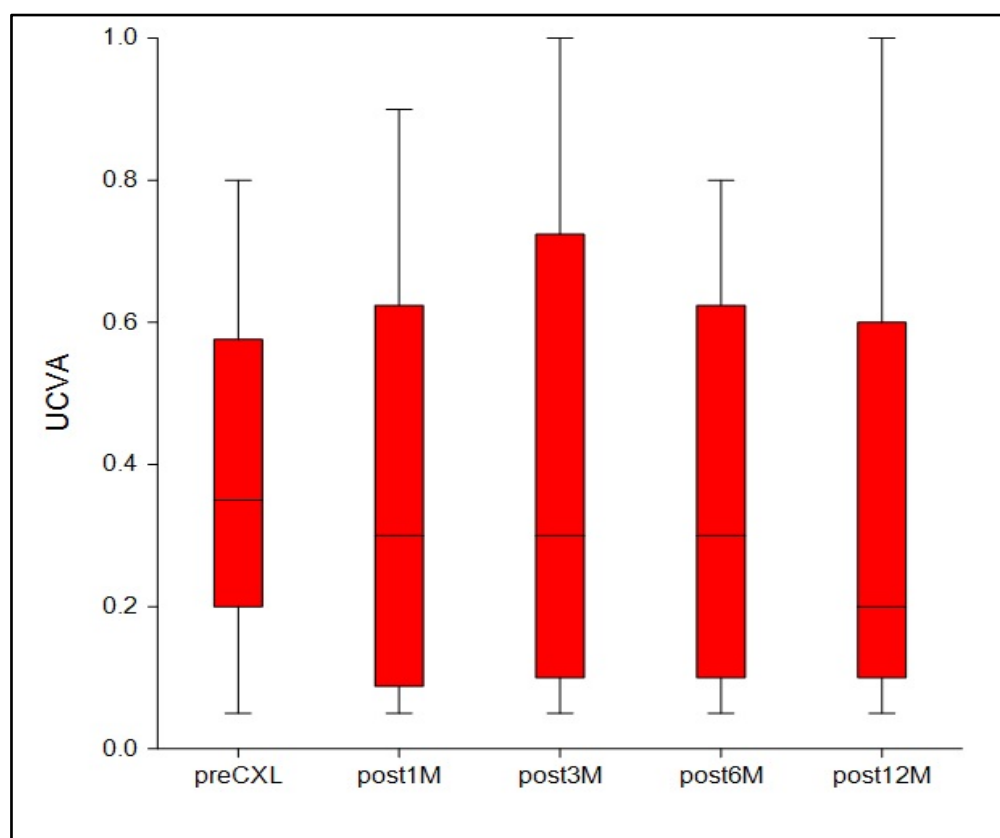
Zraková ostrost byla vyšetřena v decimálních hodnotách měřených na Snellenově optotypu. (tab.5 a 6, graf 3 a 4) Nekorigovaná zraková ostrost (UCVA) před CXL byla ve skupině A $0,37 \pm 0,28$, ve skupině B $0,38 \pm 0,29$ Snellenových řádků. Po roce byla nekorigovaná zraková ostrost (UCVA) ve skupině A $0,34 \pm 0,29$, ve skupině B se zlepšila na $0,42 \pm 0,28$ Snellenových řádků.

Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani pro jednu skupinu (pro skupinu A je $p=0,932$, pro skupinu B $p=0,425$).

Nekorigovaná zraková ostrost (UCVA) , skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|------|------|------|------|
| UCVA | | | | | |
| průměr | 0,37 | 0,37 | 0,45 | 0,36 | 0,34 |
| SD | 0,28 | 0,28 | 0,33 | 0,28 | 0,29 |
| medián | 0,35 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| min | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| max | 0,8 | 0,9 | 1 | 0,8 | 1 |

Tab. 5 Nekorigovaná zraková ostrost do dálky, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

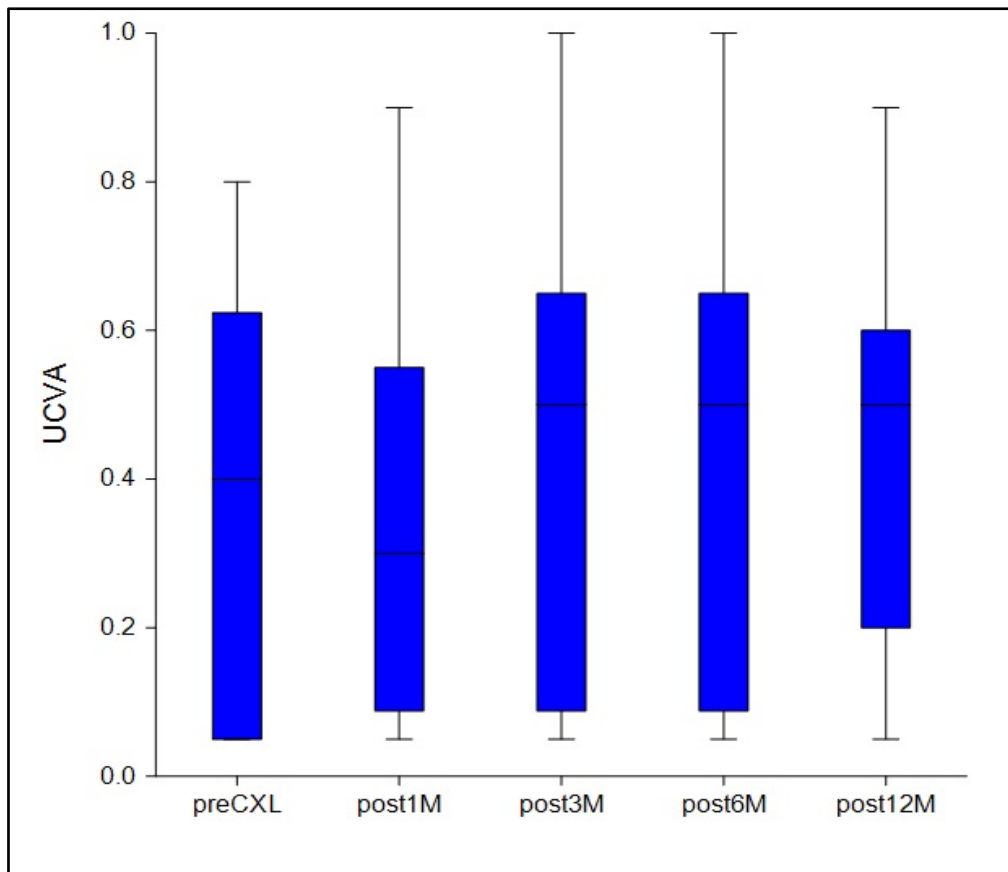


Graf 3 Nekorigovaná zraková ostrost do dálky, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

Nekorigovaná zraková ostrost (UCVA) , skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|------|------|------|------|
| UCVA | | | | | |
| průměr | 0,38 | 0,35 | 0,44 | 0,43 | 0,42 |
| SD | 0,29 | 0,28 | 0,32 | 0,29 | 0,28 |
| medián | 0,4 | 0,3 | 0,5 | 0,5 | 0,4 |
| min | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| max | 0,8 | 0,9 | 1 | 1 | 0,9 |

Tab. 6 Nekorigovaná zraková ostrost do dálky, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích



Graf 4 Nekorigovaná zraková ostrost do dálky, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

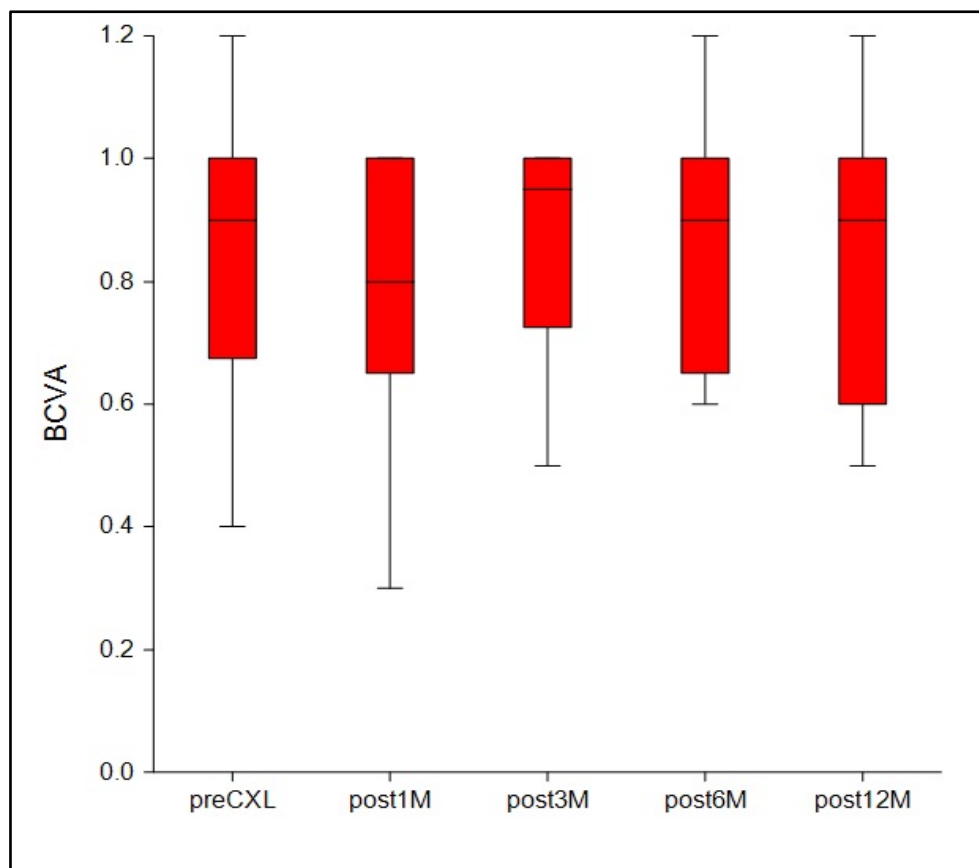
Nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA)

Nejlépe korigovaná zraková ostrost byla vyšetřena v brýlové korekci a je uváděna v decimálních hodnotách měřených na Snellenově optotypu. (tab. 7 a 8, graf 5 a 6) Průměrná hodnota nejlépe korigované zrakové ostrosti (BCVA) v brýlové korekci byla před CXL ve skupině A $0,86 \pm 0,24$ a ve skupině B $0,85 \pm 0,21$ Snellenových řádků. Rok po CXL byla BCVA v brýlové korekci ve skupině A $0,86 \pm 0,23$ a ve skupině B $0,84 \pm 0,2$ Snellenových řádků. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani pro jednu skupinu (skupina A $p=0,279$, skupina B $p=0,516$).

Nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA), skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|------|------|------|------|
| BCVA | | | | | |
| průměr | 0,86 | 0,81 | 0,88 | 0,88 | 0,86 |
| SD | 0,24 | 0,23 | 0,17 | 0,28 | 0,23 |
| medián | 0,9 | 0,8 | 0,95 | 0,9 | 0,9 |
| min | 0,4 | 0,3 | 0,05 | 0,6 | 0,5 |
| max | 1,2 | 1 | 1 | 1,2 | 1,2 |

Tab. 7 Nejlépe korigovaná zraková ostrost do dálky v brýlové korekci, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

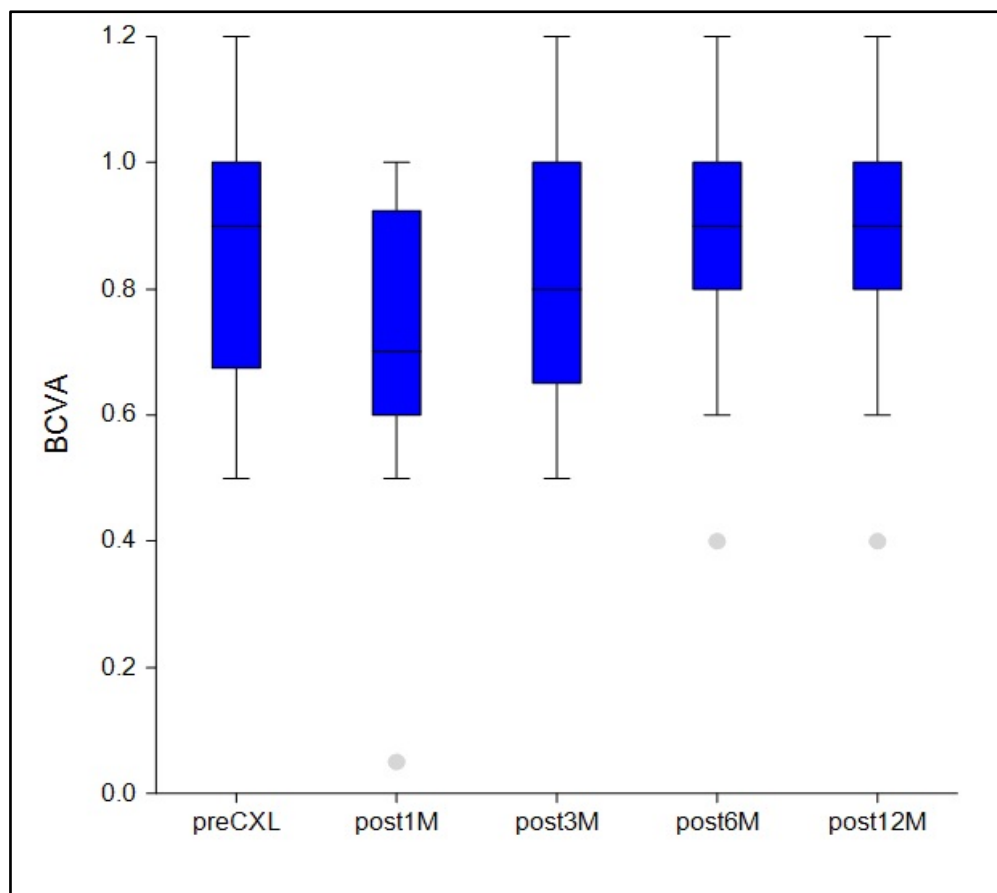


Graf 5 Nejlépe korigovaná zraková ostrost do dálky v brýlové korekci, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

Nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA), skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|------|------|------|------|
| BCVA | | | | | |
| průměr | 0,85 | 0,72 | 0,82 | 0,89 | 0,84 |
| SD | 0,21 | 0,23 | 0,23 | 0,21 | 0,2 |
| medián | 0,9 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 0,9 |
| min | 0,5 | 0,05 | 0,5 | 0,4 | 0,4 |
| max | 1,2 | 1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 |

Tab. 8 Nejlépe korigovaná zraková ostrost do dálky v brýlové korekci, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích



Graf 6 Nejlépe korigovaná zraková ostrost do dálky v brýlové korekci, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v Snellenových řádcích

Objektivní refrakce: sférické dioptrie (D)

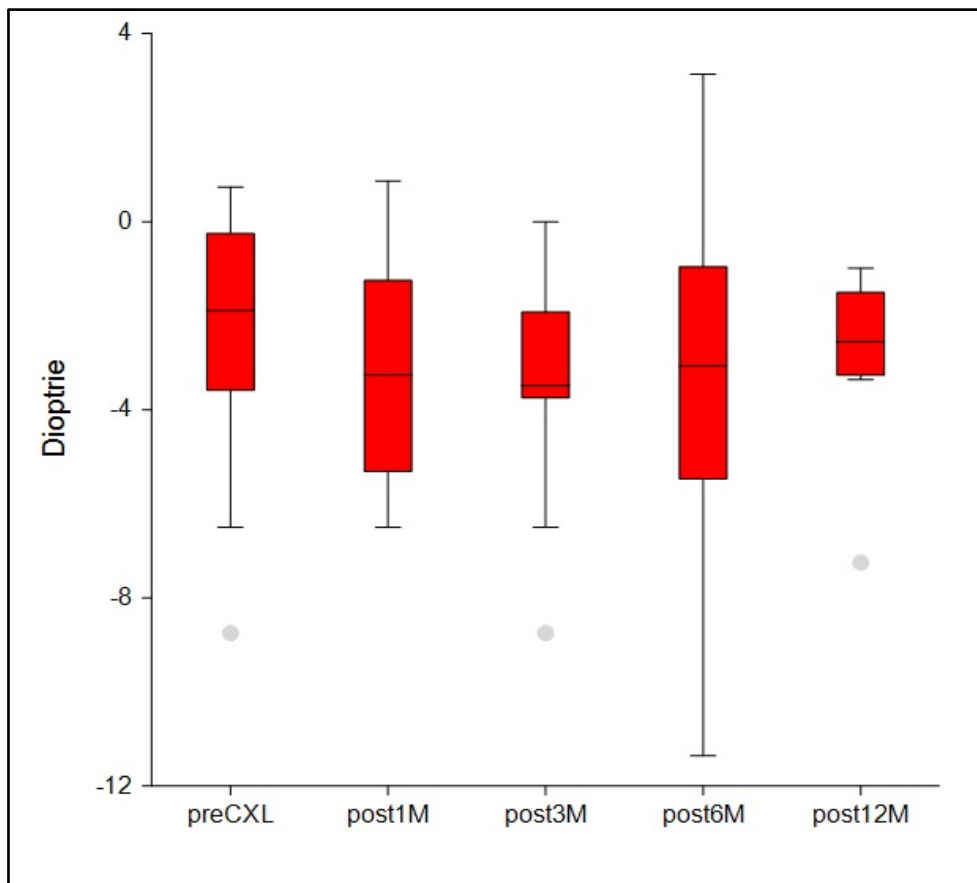
Hodnocení objektivní refrakce bylo provedeno na základě naměřených dat získaných z autorefraktometru (Acuitus 5015, Carl Zeiss, Německo).

(tab 9 a 10, graf 7 a 8) Průměrná hodnota sférické dioptrie byla před CXL ve skupině A $-2,4 \pm 2,79$ D a ve skupině B $-3,97 \pm 3,33$ D. Rok po CXL byla průměrná hodnota sférické dioptrie ve skupině A $-2,74 \pm 1,64$ D a ve skupině B $-3,17 \pm 2,43$ D. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani mezi skupinami (před CXL $p=0,167$, za rok po CXL $p=0,641$) ani v rámci skupin (pro skupinu A $p=0,675$, pro skupinu B $p=0,145$).

Objektivní refrakce: Dioptrie (D), skupina A

| skupina A | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|-------|-------|--------|-------|
| Dioptrie | | | | | |
| průměr | -2,4 | -3,1 | -3,56 | -3,19 | -2,74 |
| SD | 2,79 | 2,26 | 2,29 | 3,64 | 1,64 |
| Medián | -1,88 | -3,25 | -3,5 | -3,06 | -2,56 |
| min | -8,75 | -6,5 | -8,75 | -11,37 | -7,25 |
| max | 0,75 | 0,87 | 0 | 3,12 | -1 |

Tab. 9 Hodnoty objektivní refrakce, sférické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

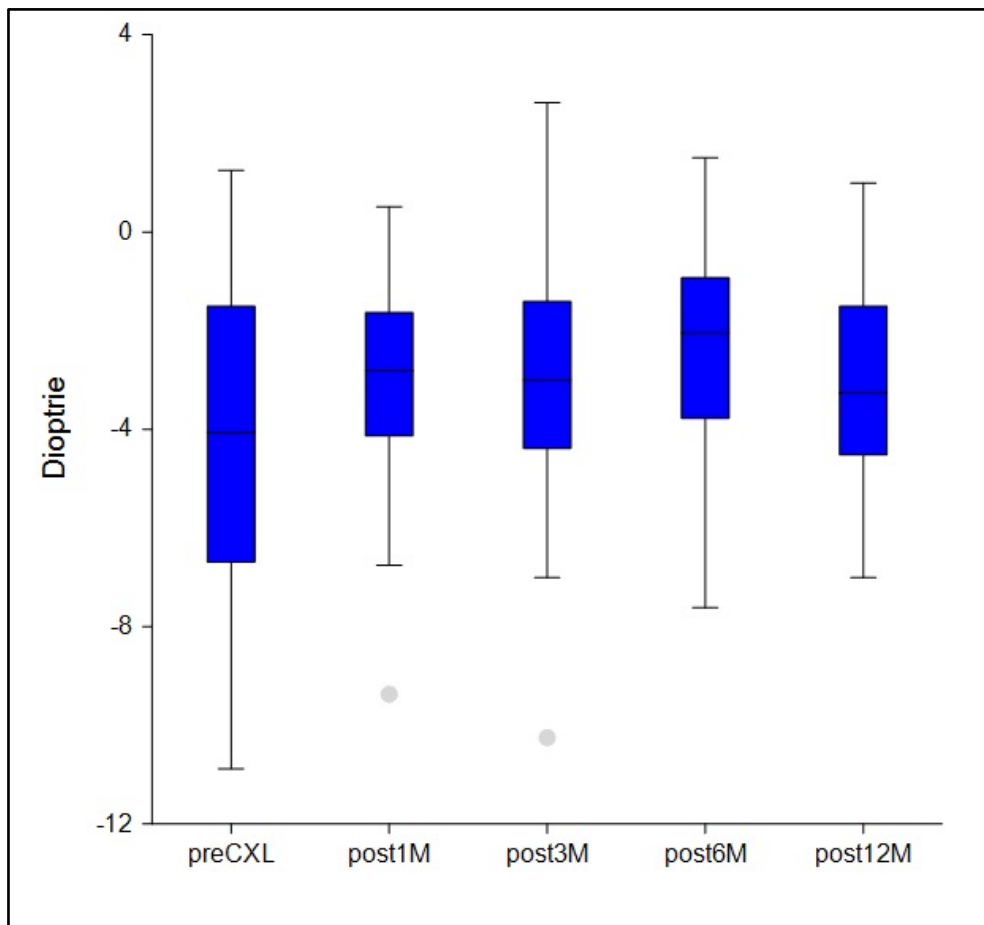


Graf 7 Hodnoty objektivní refrakce, sférické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

Objektivní refrakce: Dioptrie (D), skupina B

| skupina B | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|-------|--------|-------|-------|
| Dioptrie | | | | | |
| průměr | -3,97 | -3,08 | -3,07 | -2,35 | -3,17 |
| SD | 3,33 | 2,52 | 2,88 | 2,58 | 2,43 |
| Medián | -4,06 | -2,81 | -2,995 | -2,06 | -3,25 |
| min | -10,87 | -9,37 | -10,25 | -7,62 | -7 |
| max | 1,25 | 0,5 | 2,62 | 1,5 | 1 |

Tab. 10 Hodnoty objektivní refrakce, sférické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích



Graf 8 Hodnoty objektivní refrakce, sférické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

Objektivní refrakce: cylindrické dioptrie (Dcyl)

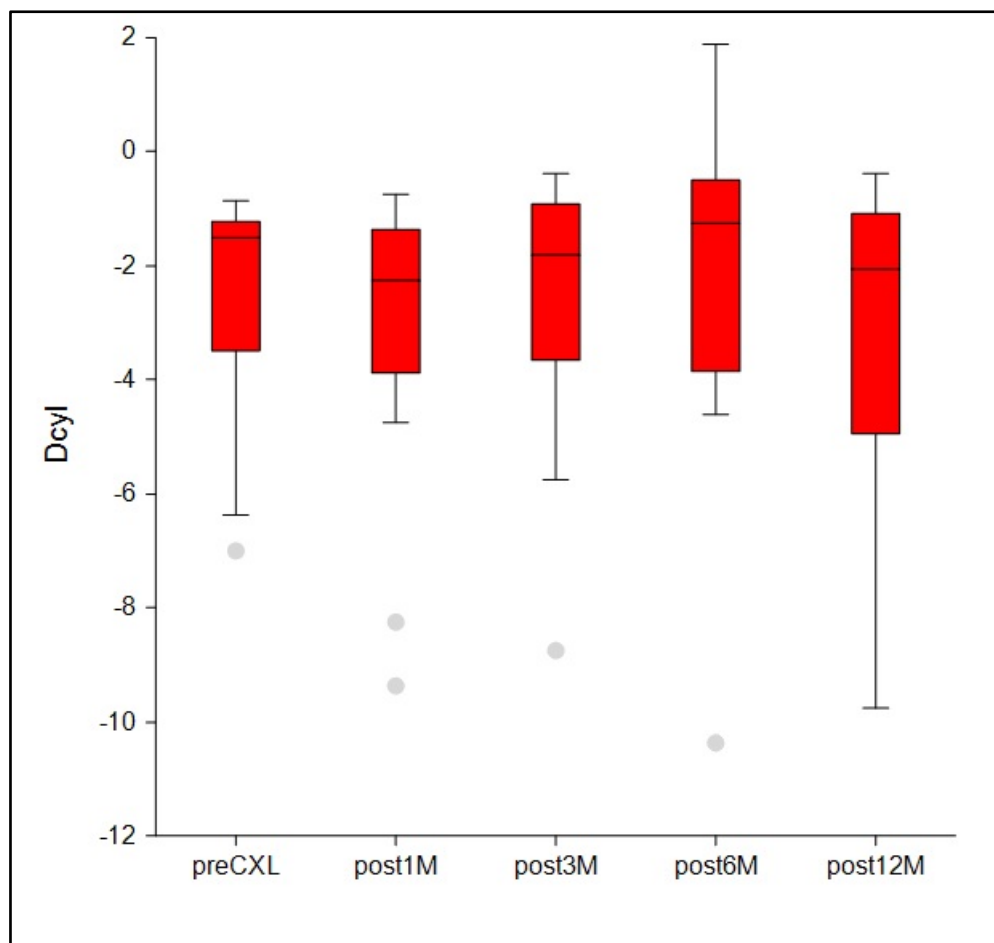
Hodnocení objektivní refrakce bylo provedeno na základě naměřených dat získaných z autorefraktometru (Acuitus 5015, Carl Zeiss, Německo).

(tab. 11 a 12, graf 9 a 10) Průměrná hodnota cylindrické dioptrie byla před CXL ve skupině A $-2,53 \pm 2,15$ Dcyl a ve skupině B $-2,26 \pm 1,81$ Dcyl. Rok po CXL byla průměrná hodnota cylindrické dioptrie ve skupině A $-3,24 \pm 2,92$ Dcyl a ve skupině B $-2,49 \pm 1,72$ Dcyl. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani mezi skupinami (před CXL $p=0,447$, za rok po CXL $p=0,502$) ani v rámci skupin (pro skupinu A $p=0,117$, pro skupinu B $p=0,743$).

Objektivní refrakce: cylindrická dioptrie (Dcyl), skupina A

| skupina A | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|-------|-------|--------|-------|
| Dcyl | | | | | |
| průměr | -2,53 | -3,15 | -2,55 | -2,22 | -3,24 |
| SD | 2,15 | 2,73 | 2,5 | 3,11 | 2,92 |
| Medián | -1,5 | -2,25 | -1,81 | -1,25 | -2,06 |
| min | -7 | -9,37 | -8,75 | -10,37 | -9,75 |
| max | -0,87 | -0,75 | -0,37 | 1,9 | -0,37 |

Tab. 11 Hodnoty objektivní refrakce, cylindrické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v cylindrických dioptriích

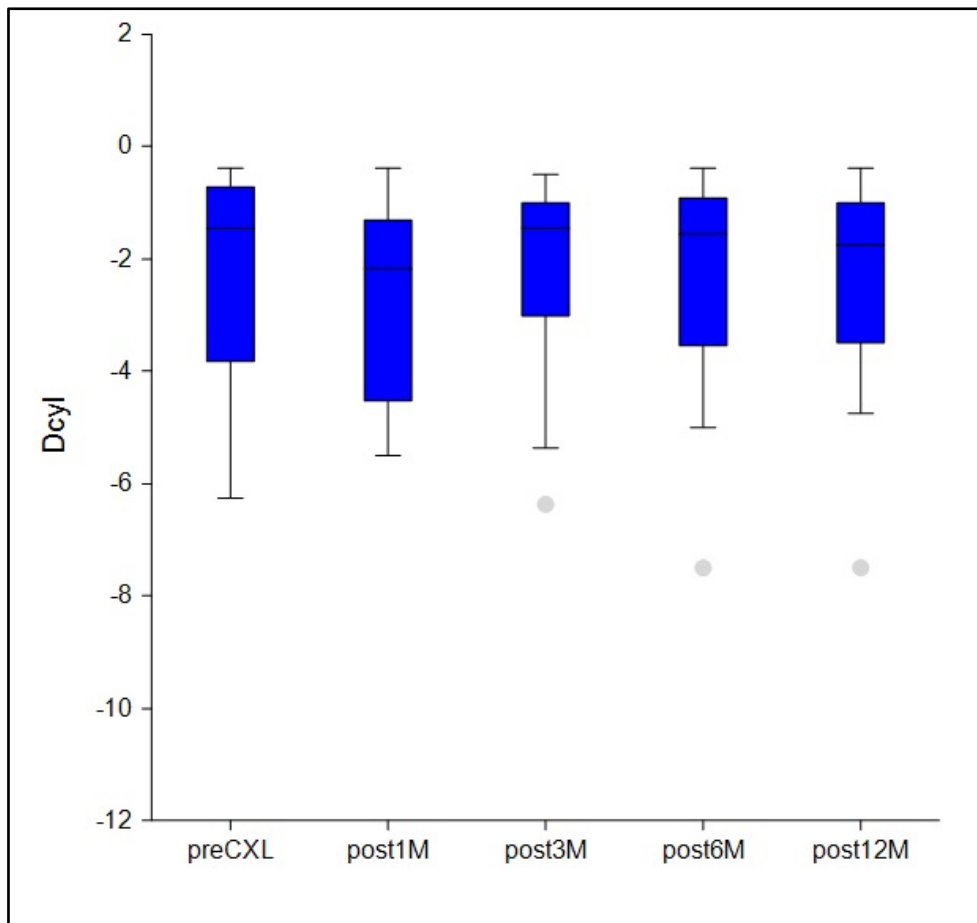


Graf 9 Hodnoty objektivní refrakce, cylindrické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v cylindrických dioptriích

Objektivní refrakce: cylindrická dioptrie (Dcyl), skupina B

| skupina B | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-------------|----------|--------|--------|-------|-------|
| Dcyl | | | | | |
| průměr | -2,26 | -2,55 | -2,22 | -2,26 | -2,49 |
| SD | 1,81 | 1,73 | 1,8 | 1,89 | 1,72 |
| Medián | -1,435 | -2,185 | -1,435 | -1,56 | -1,87 |
| min | -6,25 | -5,5 | -6,37 | -7,5 | -7,5 |
| max | -0,37 | -0,37 | -0,5 | -0,37 | 1 |

Tab. 12 Hodnoty objektivní refrakce, cylindrické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v cylindrických dioptriích



Graf 10 Hodnoty objektivní refrakce, cylindrické dioptrie získané měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v cylindrických dioptriích

Objektivní refrakce: osa astigmatismu (Ax)

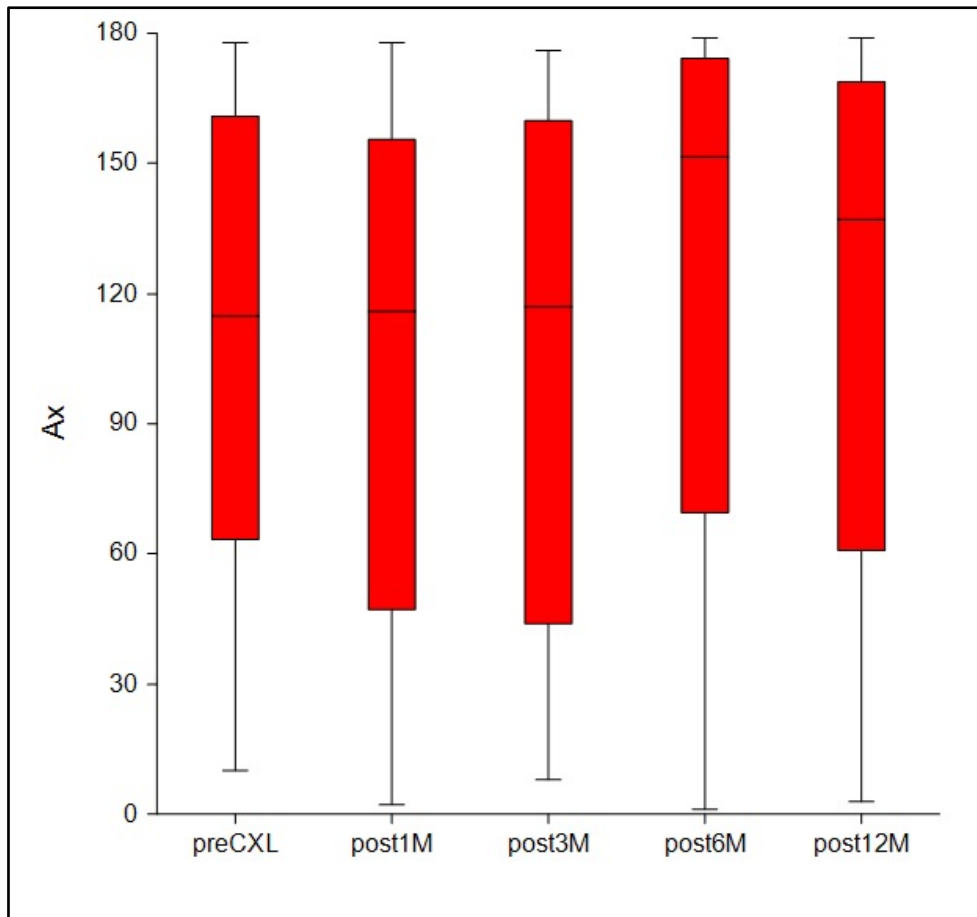
Hodnocení ploché osy astigmatismu bylo provedeno na základě naměřených dat získaných z autorefraktometru (Acuitus 5015, Carl Zeiss, Německo).

(tab. 13 a 14, graf 11 a 12) Průměrná hodnota ploché osy astigmatismu byla před CXL ve skupině A $107,4 \pm 56,5^\circ$ a ve skupině B $89,7 \pm 57,3^\circ$. Rok po CXL byla průměrná hodnota ploché osy astigmatismu ve skupině A $114,8 \pm 62,7^\circ$ a ve skupině B $96,7 \pm 56,6^\circ$. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani mezi skupinami (před CXL $p=0,332$, za rok po CXL $p=0,417$) ani v rámci skupin (pro skupinu A $p=0,724$, pro skupinu B $p=0,485$).

Objektivní refrakce: osa astigmatismu (Ax), skupina A

| skupina A | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|-------|-------|-------|
| Ax | | | | | |
| průměr | 107,4 | 75,5 | 100,1 | 121 | 114,8 |
| SD | 56,5 | 59 | 61,8 | 66,1 | 62,7 |
| Medián | 115 | 90 | 117 | 151,5 | 137 |
| min | 10 | 0 | 8 | 1 | 3 |
| max | 178 | 175 | 176 | 179 | 179 |

Tab. 13 Hodnoty objektivní refrakce, osa astigmatismu získaná měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v stupních

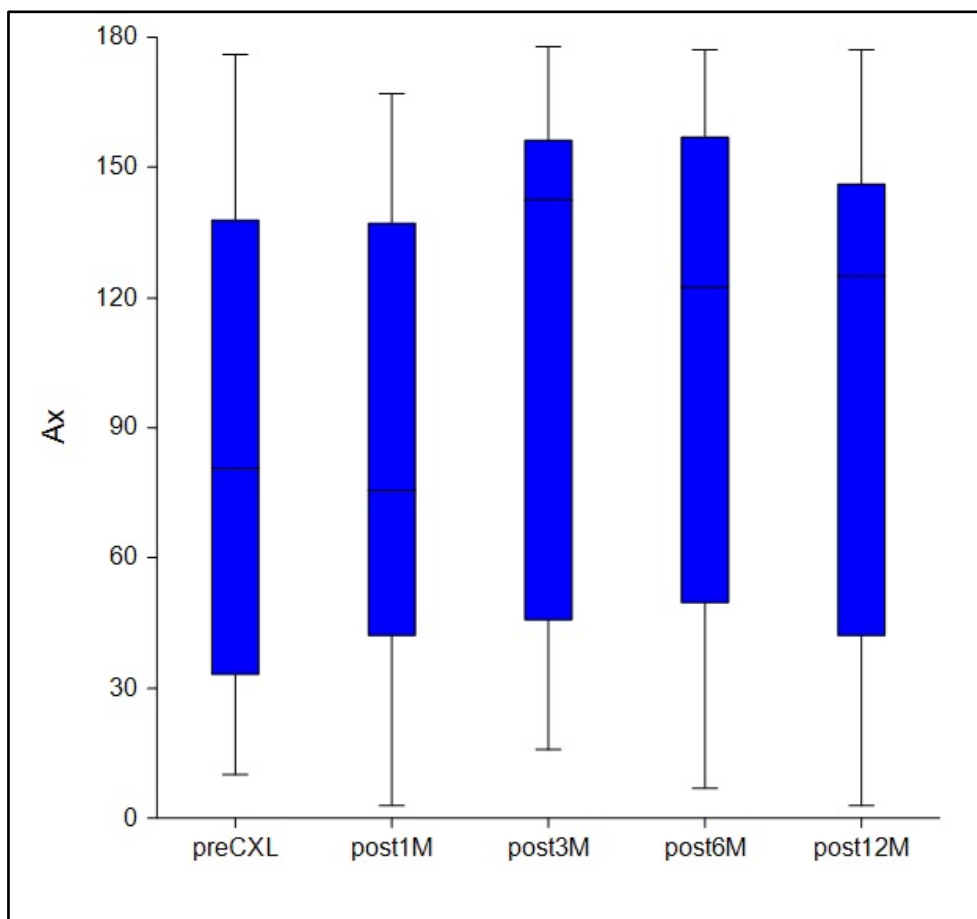


Graf 11 Hodnoty objektivní refrakce, osa astigmatismu získaná měřením na autorefraktometru, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v stupních

Objektivní refrakce: osa astigmatismu (Ax), skupina B

| skupina B | před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|-------|-------|------|
| Ax | | | | | |
| průměr | 89,7 | 71,6 | 108,6 | 106,2 | 96,7 |
| SD | 57,3 | 51,9 | 59,1 | 57,4 | 56,6 |
| Medián | 80,5 | 70 | 142,5 | 122,5 | 81 |
| min | 10 | 0 | 16 | 7 | 7 |
| max | 176 | 165 | 178 | 177 | 177 |

Tab. 14 Hodnoty objektivní refrakce, osa astigmatismu získaná měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v stupních



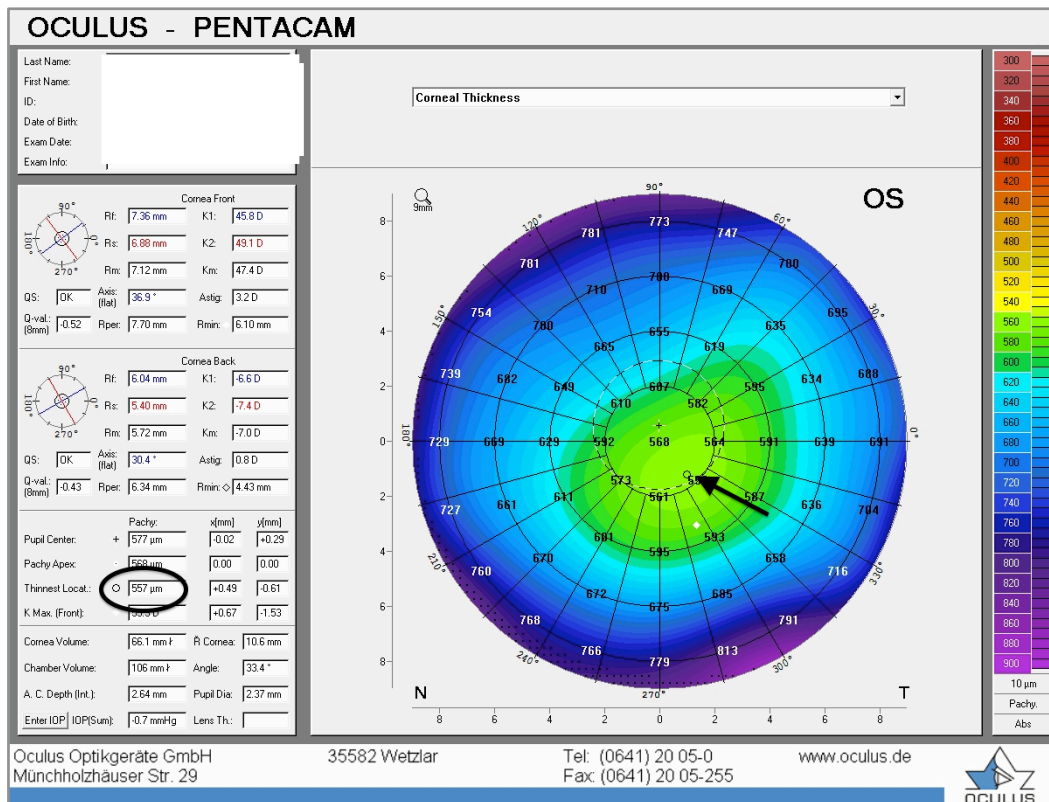
Graf 12 Hodnoty objektivní refrakce, osa astigmatismu získaná měřením na autorefraktometru, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v stupních

PENTACAM

Keratometrické hodnoty K_1 , K_2 , K_{\max} (optická mohutnost v plochém a ve strmém meridiánu a v nejstrmějším místě rohovky) (obr. 13, 14, 15) uvedené v dioptriích byly získány měřením pomocí optické tomografie na bázi Scheimpflugova zobrazení na přístroji Pentacam (Pentacam Classic, Oculus, Wetzlar, Německo). Na Pentacamu byla sledována tloušťka rohovky v jejím nejtenčím místě (CCT) (obr. 11), elevační změny předního (EF) a zadního povrchu (EB) (obr. 17 a 18) rohovky. Hodnoty jsou uváděny v mikrometrech. Dále bylo sledováno sagitální zobrazení (SCF) (obr. 19), hodnoty jsou uváděny v dioptriích. Topografický pohyb centra rohovky před zákrokem a po něm byl sledován pomocí os x a y ve vztahu k hodnotám K_{\max} (obr. 16) a pachymetrickému měření v nejtenčím místě na rohovce (CCT) (obr. 12). Hodnoty jsou uváděny v milimetrech. Topografická progresse onemocnění na Scheimpflugovém zobrazení byla měřena v režimu BFTE.

Tloušťka rohovky v nejtenčím místě (CCT)

Tloušťka rohovky před CXL ve skupině A byla průměrně $464,4 \pm 34,9 \mu\text{m}$, ve skupině B $470,4 \pm 32,1 \mu\text{m}$. Po 1 roce se změnila ve skupině A na $461,7 \pm 35 \mu\text{m}$ a ve skupině B $452,7 \pm 34 \mu\text{m}$. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl (skupina A $p=0,215$, skupina B $p=0,146$) ani mezi skupinami A a B (před léčbou $p=0,613$, za rok po CXL $p=0,982$). (tab. 15 a 16, graf 13 a 14)



Obr. 11 Pachymetrické hodnoty v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

CCT, skupina A

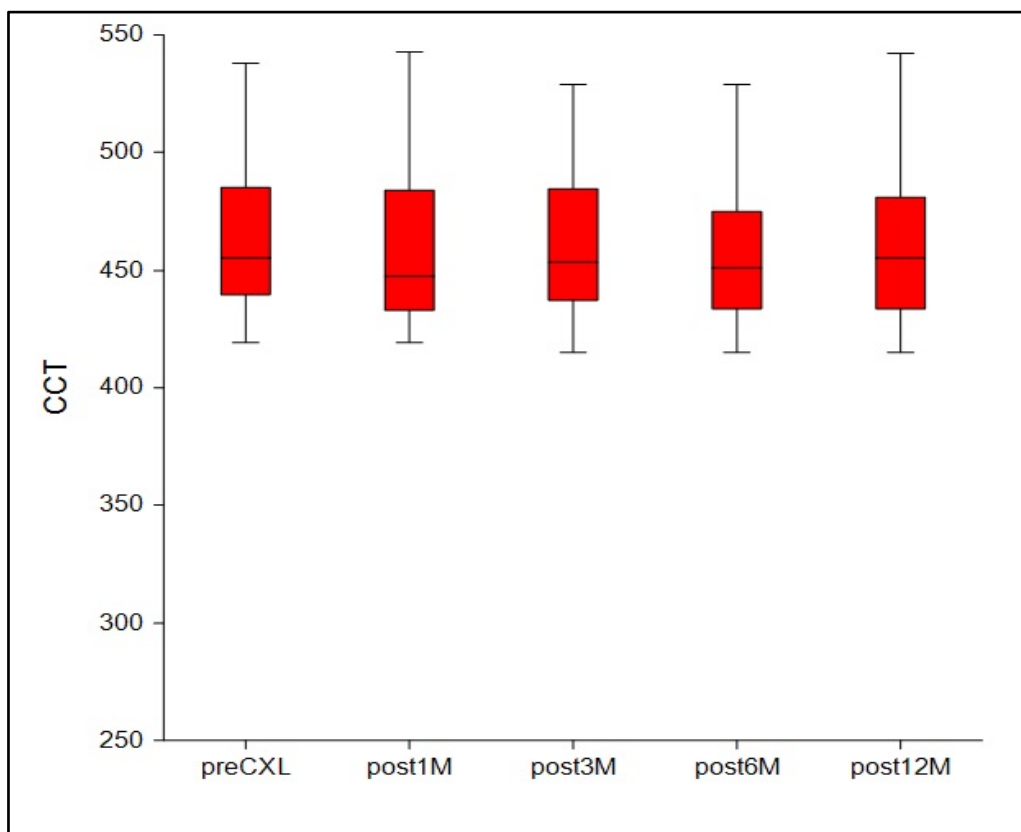
| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------|----------|-------|-------|-----|-------|
| CCT | | | | | |
| průměr | 464,4 | 460,4 | 461,1 | 459 | 461,7 |
| SD | 34,9 | 36,3 | 33,1 | 31 | 35 |
| medián | 455 | 447,5 | 453,5 | 451 | 455,5 |
| min | 419 | 419 | 415 | 415 | 415 |
| max | 538 | 543 | 529 | 529 | 542 |

Tab. 15 Pachymetrické hodnoty v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

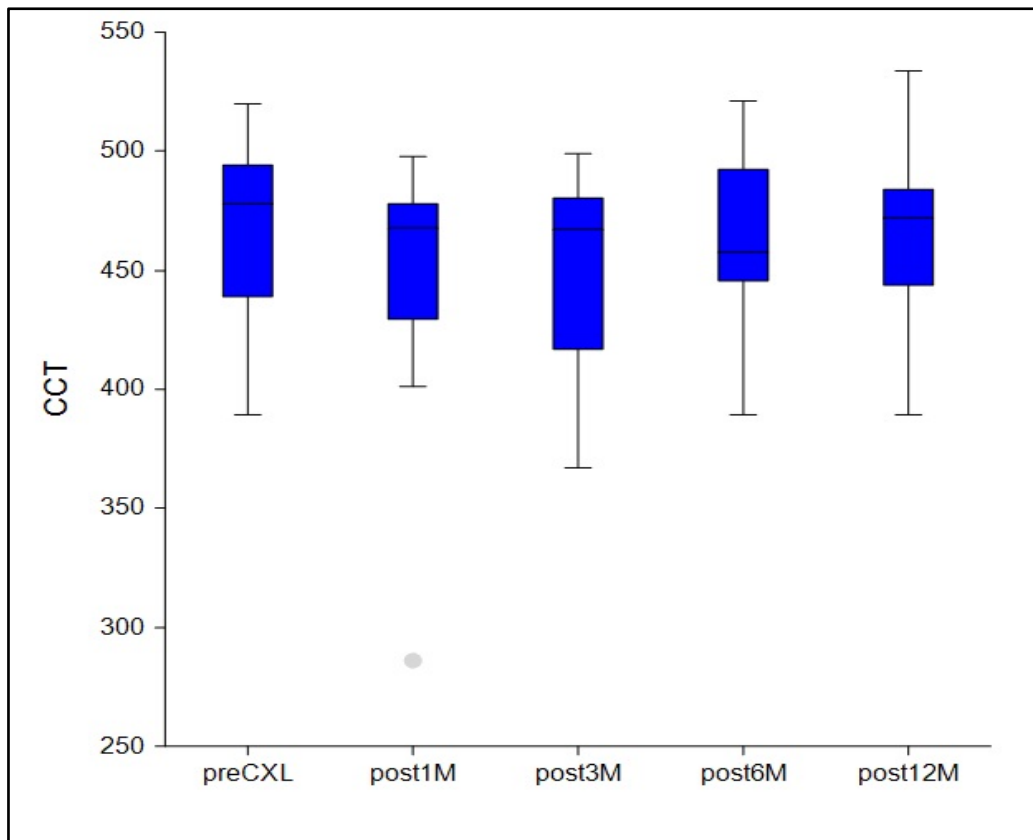
CCT, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| CCT | | | | | |
| průměr | 470,4 | 448,4 | 451,9 | 461,6 | 461,4 |
| SD | 32,1 | 50,6 | 39,1 | 35,8 | 36,3 |
| medián | 478 | 468 | 467 | 457,5 | 472 |
| min | 389 | 286 | 367 | 389 | 389 |
| max | 520 | 498 | 499 | 521 | 534 |

Tab. 16 Pachymetrické hodnoty v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



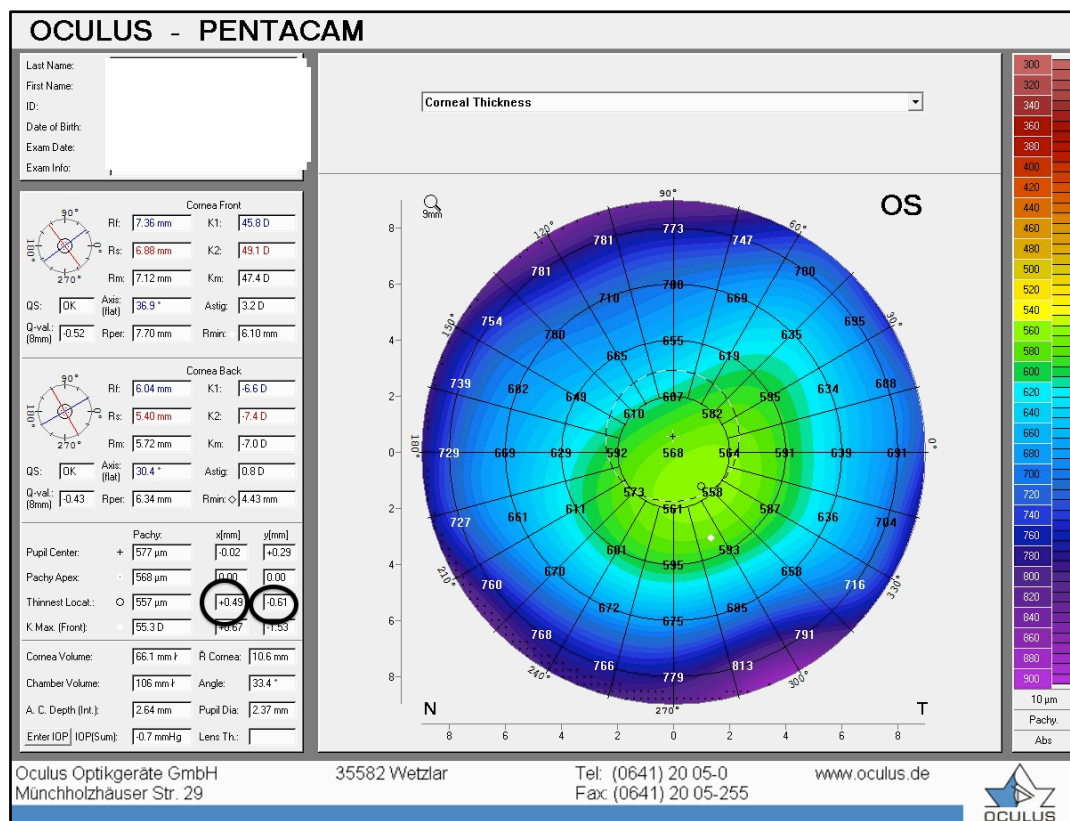
Graf 13 Pachymetrické hodnoty v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 14 Pachymetrické hodnoty v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

CCT – osa x a y

Průměrná hodnota osy x tloušťky rohovky v nejtenčím místě před CXL ve skupině A byla průměrně 0,22 mm, ve skupině B 0,00 mm. Průměrná hodnota osy y tloušťky rohovky v nejtenčím místě před CXL ve skupině A byla průměrně -0,54 mm, ve skupině B -0,62 mm. Po 1 roce se průměrná hodnota osy x změnila ve skupině A na 0,1 mm a ve skupině B -0,08 mm. Průměrná hodnota osy y tloušťky rohovky v nejtenčím místě 1 rok po CXL ve skupině A byla průměrně -0,58 mm, ve skupině B -0,49 mm. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A (osa x $p=0.92515$, osa y $p=0.79978$) ani ve skupině B (osa x $p=0.886345$, osa y $p=0.097354$). (tab. 17 a 18, graf 15 a 16)



Obr. 12 Hodnoty os x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

CCT – osa x a y, skupina A

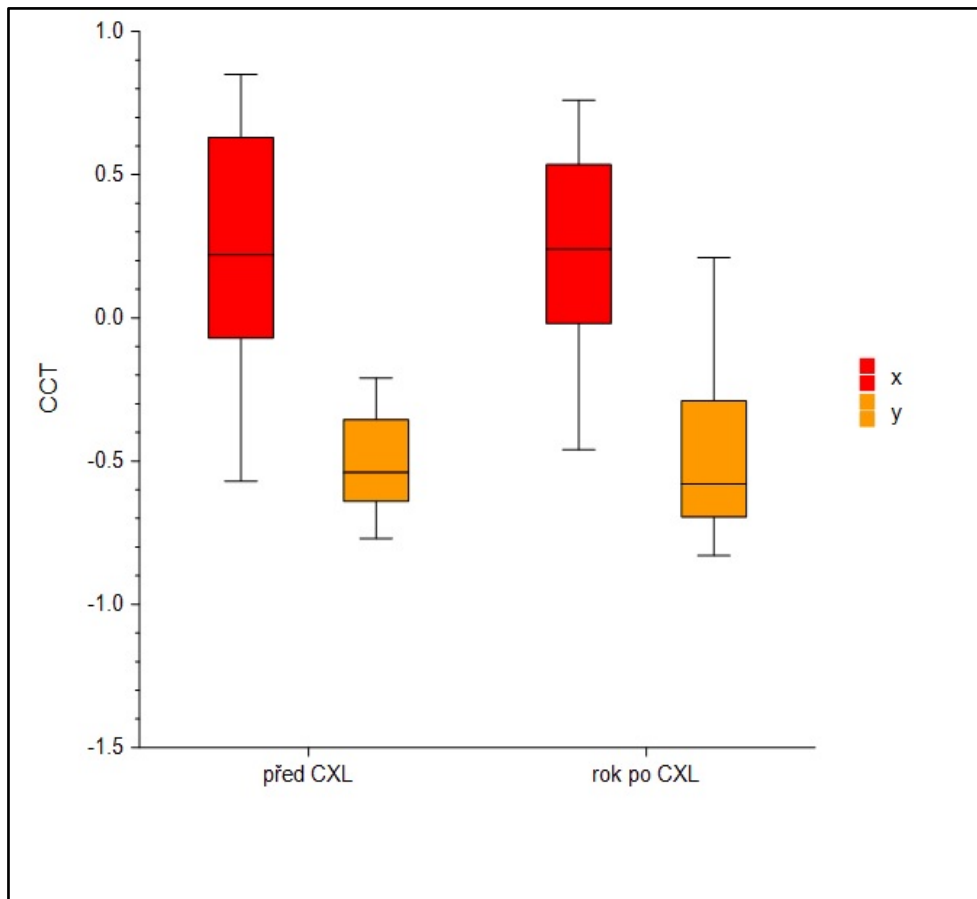
| skupina A | Před CXL | Před CXL | 12M po CXL | 12M po CXL |
|-----------|----------|----------|------------|------------|
| CCT | x | y | x | y |
| průměr | 0,22 | -0,54 | 0,1 | -0,58 |
| SD | 0,45 | 0,19 | 0,57 | 0,21 |
| medián | 0,24 | -0,58 | 0,24 | -0,59 |
| min | -0,57 | -1,02 | -1,26 | -0,94 |
| max | 0,85 | -0,21 | 0,76 | -0,2 |

Tab. 17 Hodnoty os x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech

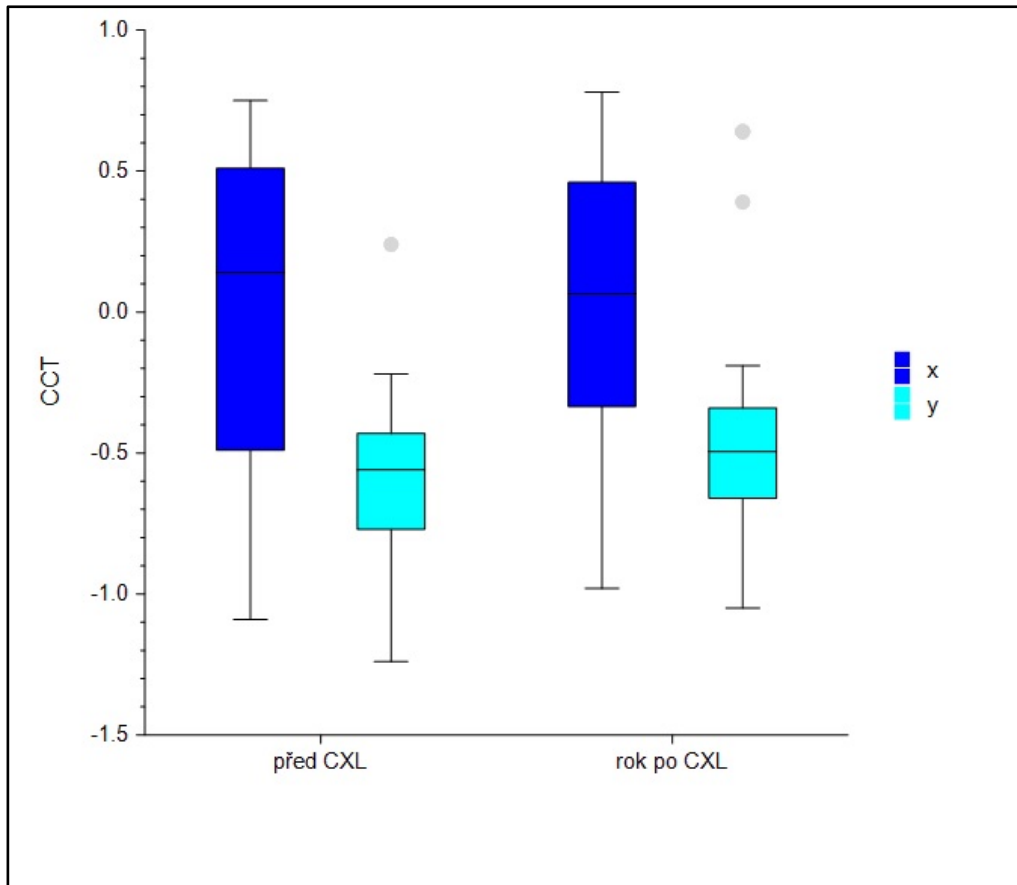
CCT – osa x a y, skupina B

| skupina B | Před CXL | Před CXL | 12M po CXL | 12M po CXL |
|------------|----------|----------|------------|------------|
| CCT | x | y | x | y |
| průměr | 0 | -0,62 | -0,08 | -0,49 |
| SD | 0,57 | 0,24 | 0,48 | 0,39 |
| medián | 0,14 | -0,56 | -0,13 | -0,52 |
| min | -1,09 | -1,24 | -0,98 | -1,05 |
| max | 0,75 | -0,22 | 0,78 | 0,64 |

Tab. 18 Hodnoty os x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech



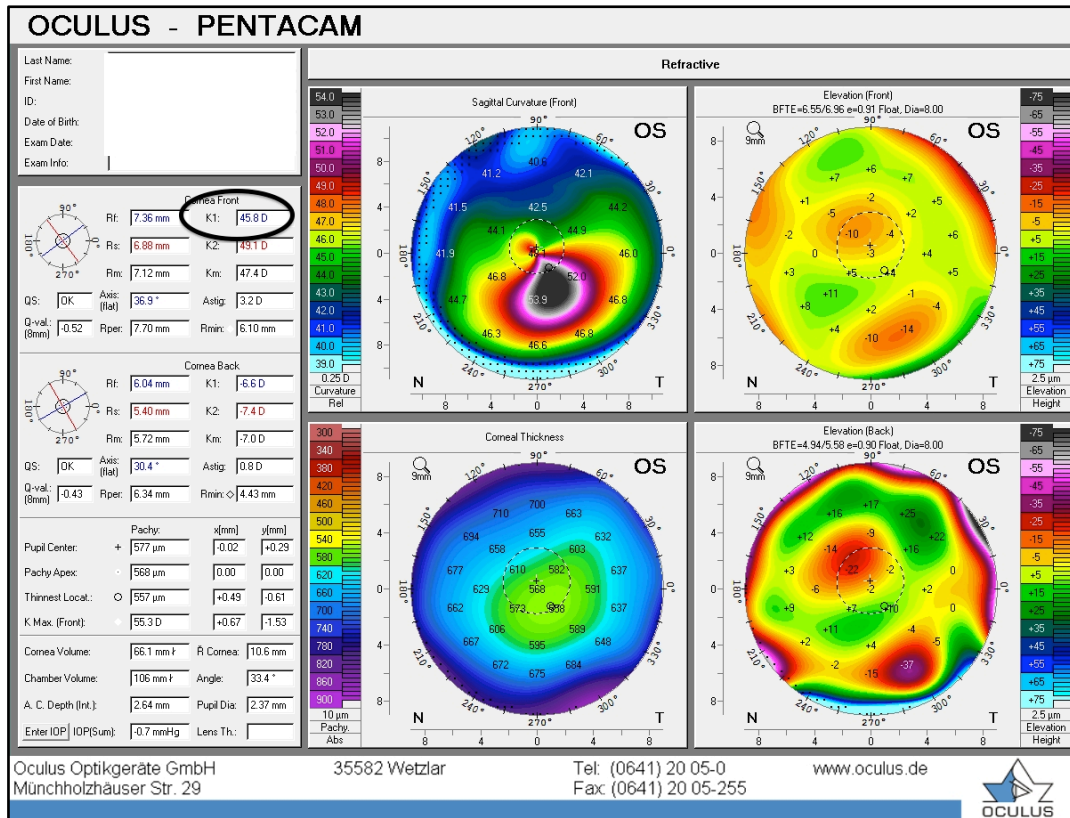
Graf 15 Hodnoty os x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech



Graf 16 Hodnoty os x a y ve vztahu k pachymetrické hodnotě v nejtenčím místě na rohovce získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech

Keratometrie v plochém meridiánu (K1)

Hodnoty K1 v 3mm zóně byly před léčbou ve skupině A $45,58 \pm 4,25$ D a ve skupině B $44,78 \pm 3,44$ D. Po roce se změnilo ve skupině A na $45,56 \pm 4,48$ D a ve skupině B $44,20 \pm 3,20$ D. Pro K1 nebyl nalezen statisticky významný rozdíl pro skupinu A $p=0,95$, ale rozdíl byl nalezen pro skupinu B ($p=0,00327$), mezi skupinami nebyl nalezen rozdíl (před léčbou $p=0,675$, za rok $p=0,5$). (tab. 19 a 20, graf 17 a 18)

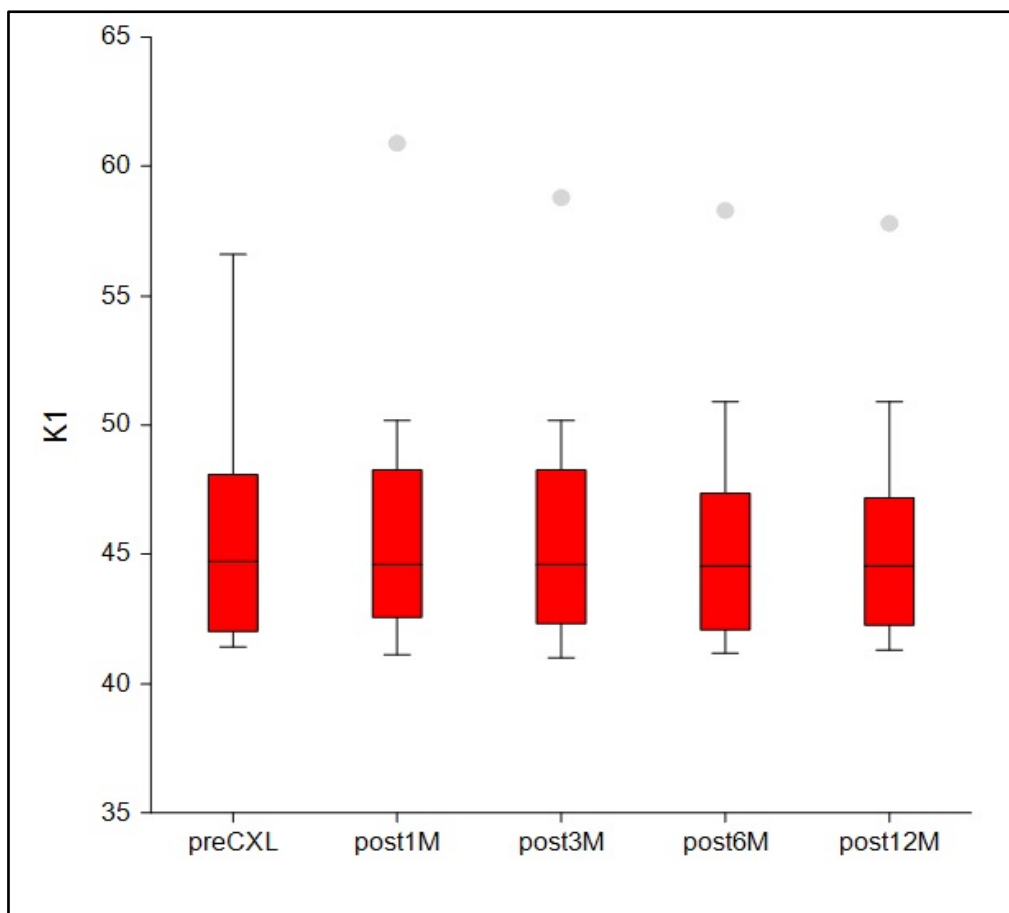


Obr. 13 Hodnoty keratometrie v plochem meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

K1, skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|------|------|------|
| K1 | | | | | |
| průměr | 45,58 | 46 | 45,8 | 45,6 | 45,6 |
| SD | 4,25 | 5,1 | 4,7 | 4,7 | 4,5 |
| medián | 44,75 | 44,6 | 44,6 | 44,6 | 44,6 |
| min | 41,4 | 41,1 | 41 | 41,2 | 41,3 |
| max | 56,6 | 60,9 | 58,8 | 58,3 | 57,8 |

Tab. 19 Hodnoty keratometrie v plochem meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

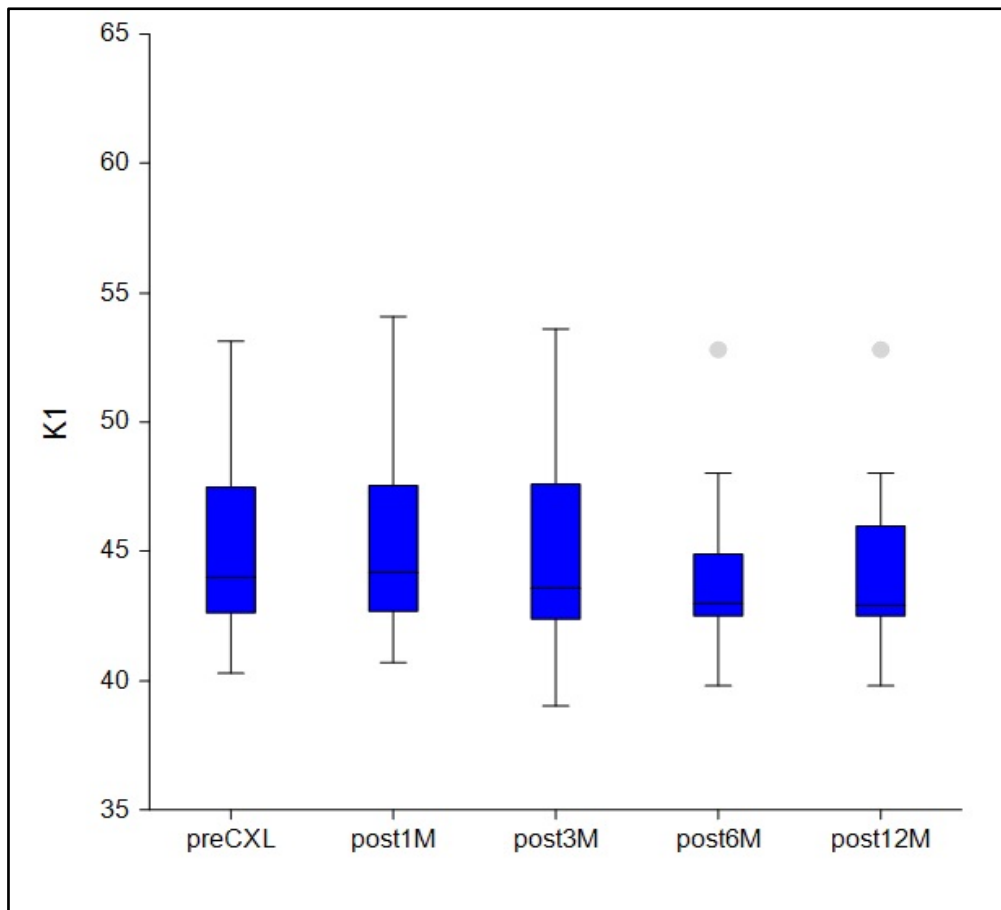


Graf 17 Hodnoty keratometrie v plochem meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

K1, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|------|------|------|
| K1 | | | | | |
| průměr | 44,78 | 45,1 | 44,6 | 43,8 | 44,2 |
| SD | 3,44 | 3,4 | 3,6 | 3 | 3,2 |
| medián | 44 | 44,2 | 43,6 | 43 | 42,9 |
| min | 40,3 | 40,7 | 39 | 39,8 | 39,8 |
| max | 63,1 | 54,1 | 53,6 | 52,8 | 52,8 |

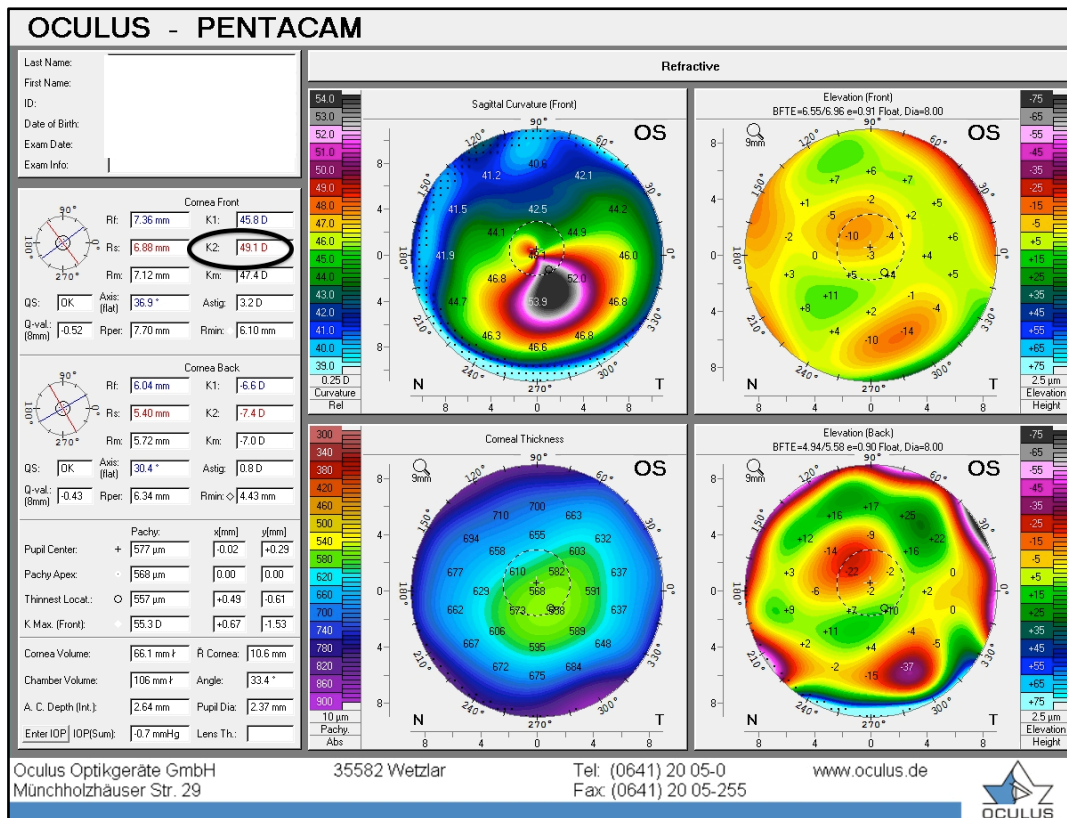
Tab. 20 Hodnoty keratometrie v plochem meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích



Graf 18 Hodnoty keratometrie v plochém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

Keratometrie ve strmém meridiánu (K2)

Hodnoty K2 v 3mm zóně byly před léčbou ve skupině A $49 \pm 4,9$ D a ve skupině B $48,1 \pm 4,7$ D. Po roce se změnili ve skupině A na $49,5 \pm 5,7$ D a ve skupině B $48 \pm 5,1$ D. Pro K2 nebyl nalezen statisticky významný rozdíl pro skupinu A ($p=0,0507$) a skupinu B ($p=0,717$), ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,597$, za rok po CXL $p=0,512$). (tab. 21 a 22, graf 19 a 20)

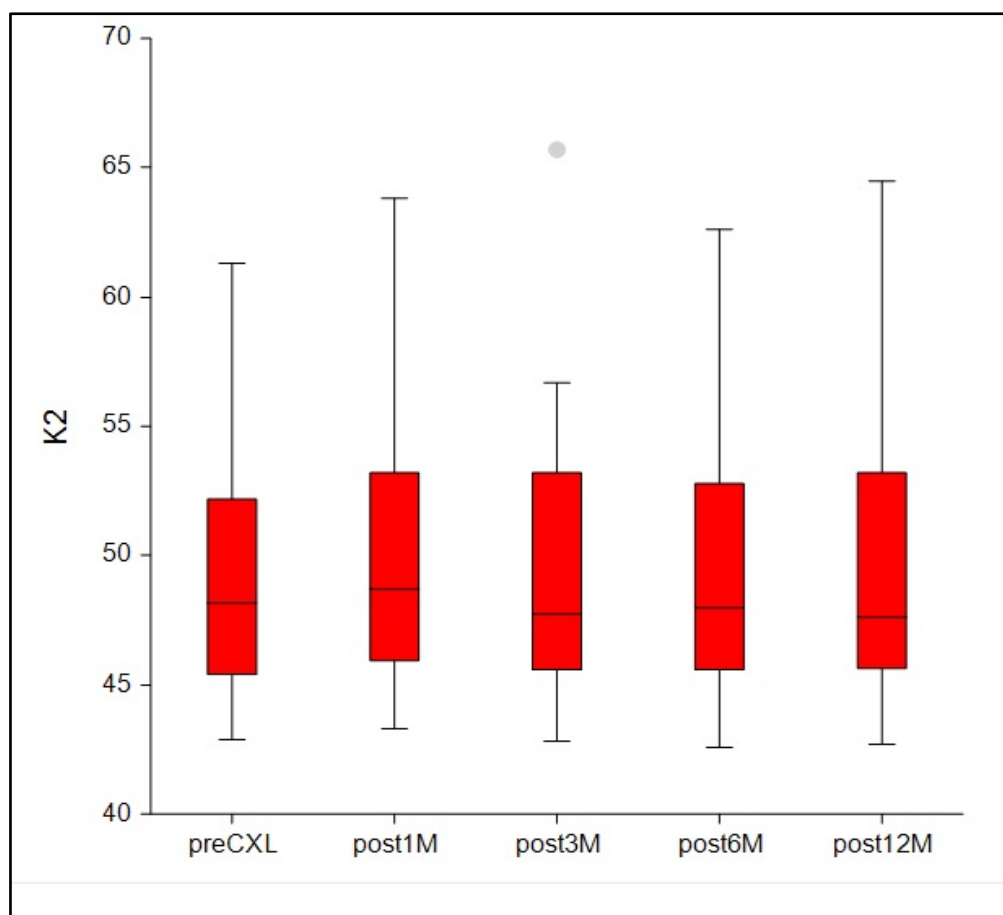


Obr. 14 Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

K2, skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|------|------|------|
| K2 | | | | | |
| průměr | 49 | 49,8 | 49,6 | 49,3 | 49,5 |
| SD | 4,9 | 5,5 | 6 | 5,2 | 5,7 |
| medián | 48,2 | 48,7 | 47,8 | 48 | 47,6 |
| min | 42,9 | 43,3 | 42,8 | 42,6 | 42,7 |
| max | 61,3 | 63,8 | 65,7 | 62,6 | 64,5 |

Tab. 21 Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

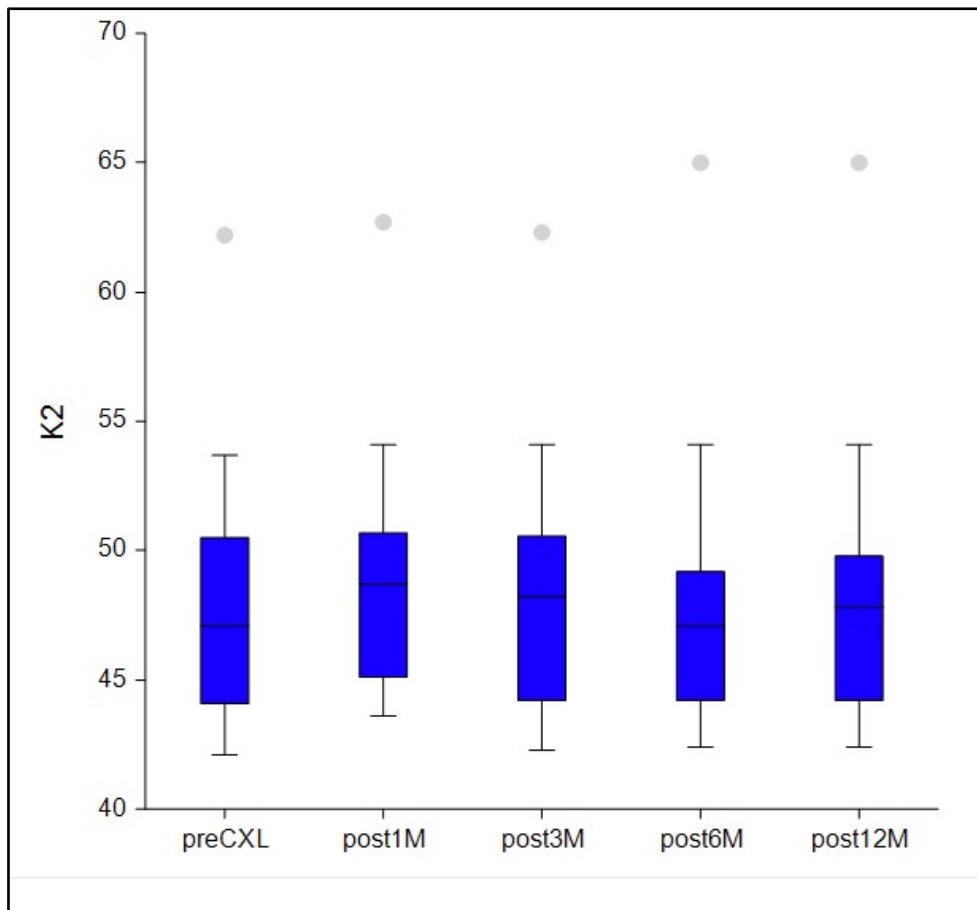


Graf 19 Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

K2, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------|----------|------|------|------|------|
| K2 | | | | | |
| průměr | 48,1 | 49 | 48,3 | 47,9 | 48 |
| SD | 4,7 | 4,6 | 4,8 | 5,1 | 5,1 |
| medián | 47,1 | 48,7 | 48,2 | 47,1 | 47,8 |
| min | 42,1 | 43,6 | 42,3 | 42,4 | 42,4 |
| max | 62,2 | 62,7 | 62,3 | 65 | 65 |

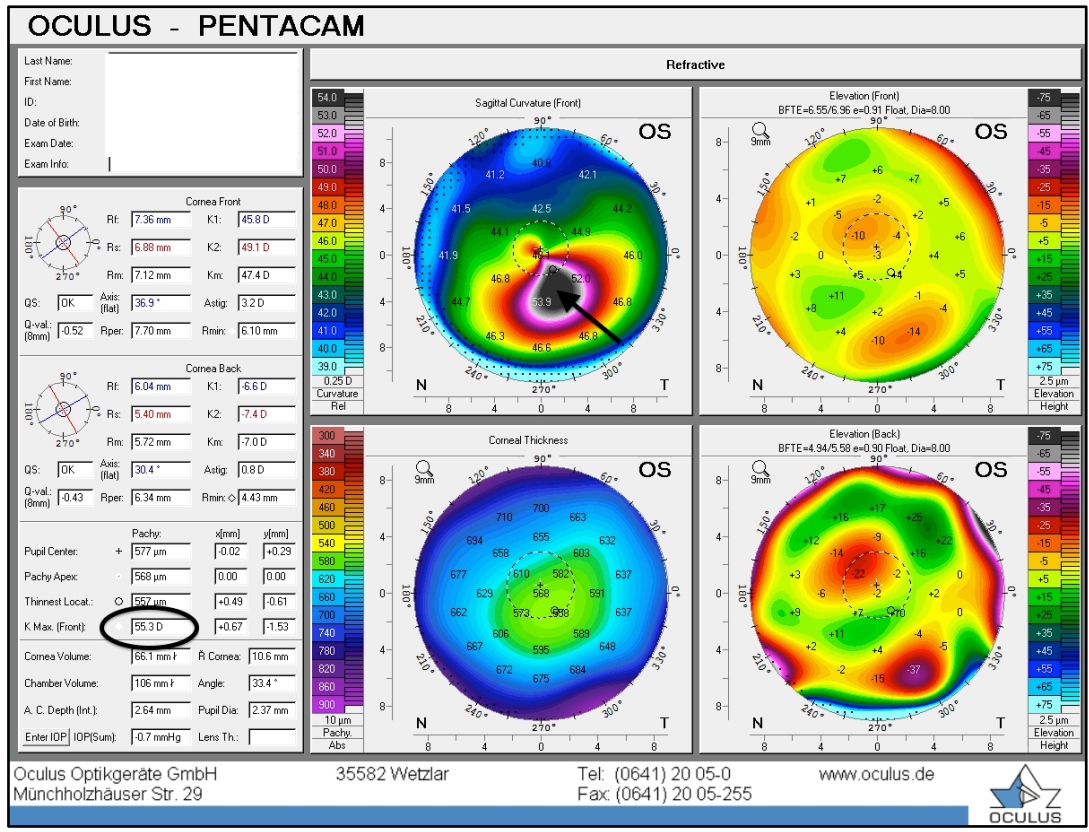
Tab. 22 Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích



Graf 20 Hodnoty keratometrie ve strmém meridiánu získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

Maximální simulovaná keratometrie (K_{max})

Průměrná hodnota K_{max} před léčbou byla ve skupině A $54,73 \pm 7,32$ D a ve skupině B $54,14 \pm 6,80$ D a po ročním sledování ve skupině A $54,07 \pm 8,10$ D a ve skupině B $54,83 \pm 4,91$ D. Pro K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl (skupina A $p=0,0851$, skupina B $p=0,825$), ani mezi skupinami A a B (před léčbou $p=0,823$, za rok po CXL $p=0,774$). (tab.23 a 24, graf 21 a 22)

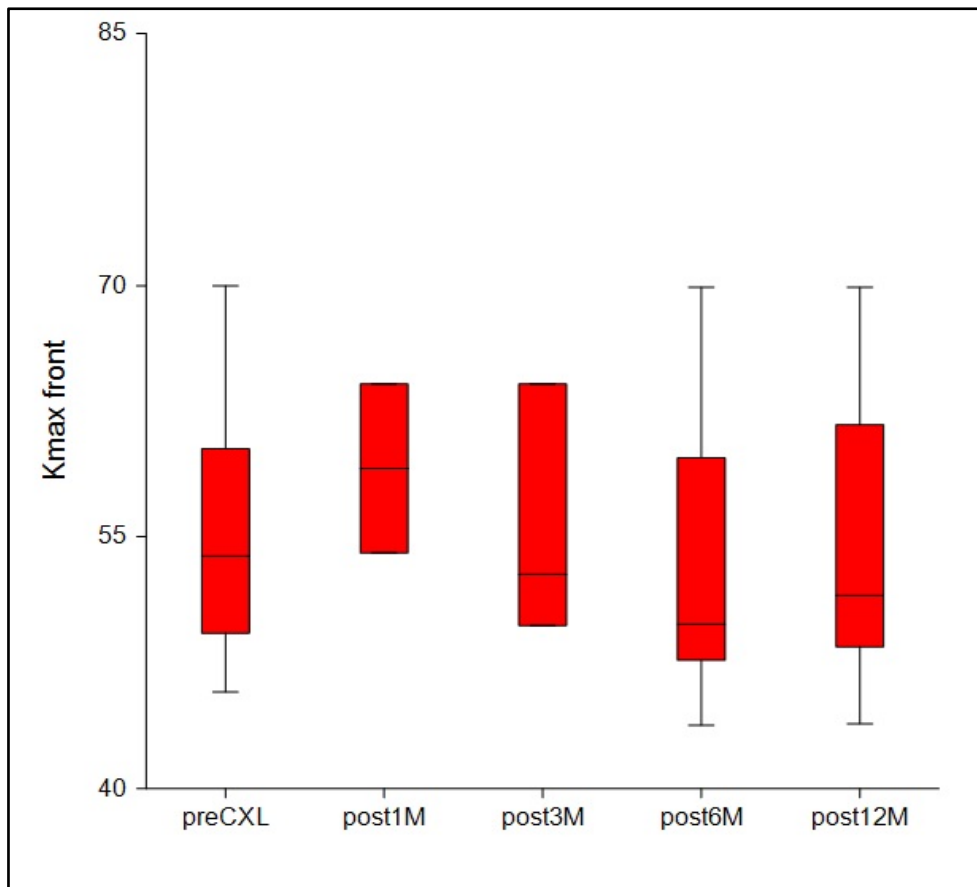


Obr. 15 Hodnoty maximální simulované keratometrie získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

K_{max}, skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|----|-------|-------|-------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 54,73 | | 55,53 | 53,23 | 54,07 |
| SD | 7,32 | | 7,58 | 7,97 | 8,1 |
| medián | 53,85 | | 52,8 | 49,85 | 51,5 |
| min | 45,8 | | 49,7 | 43,8 | 43,9 |
| max | 70 | | 64,1 | 69,9 | 69,9 |

Tab. 23 Hodnoty maximální simulované keratometrie získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

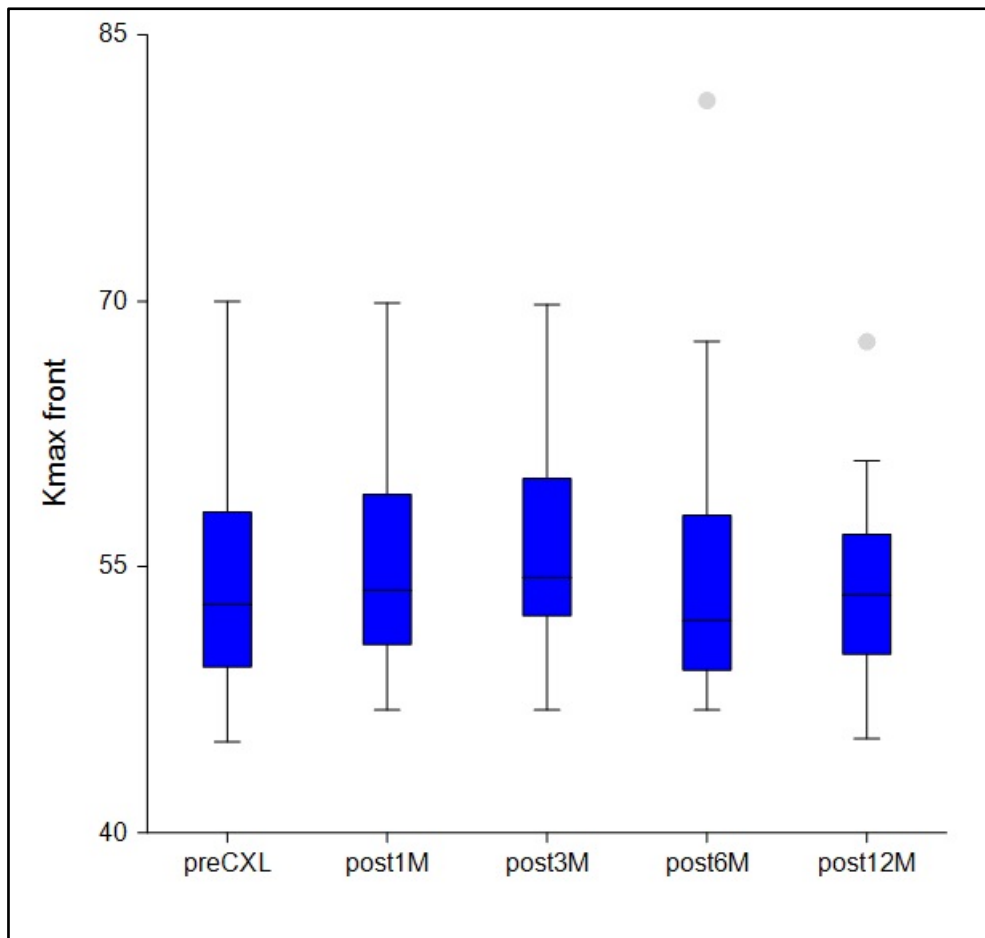


Graf 21 Hodnoty maximální simulované keratometrie získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

K_{max}, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 54,14 | 55,44 | 56,03 | 54,78 | 54,83 |
| SD | 6,8 | 6,72 | 6,57 | 8,61 | 4,91 |
| medián | 52,9 | 53,7 | 54,4 | 52 | 53,9 |
| min | 45,1 | 46,9 | 46,9 | 46,9 | 47,1 |
| max | 70 | 69,9 | 69,8 | 81,3 | 67,7 |

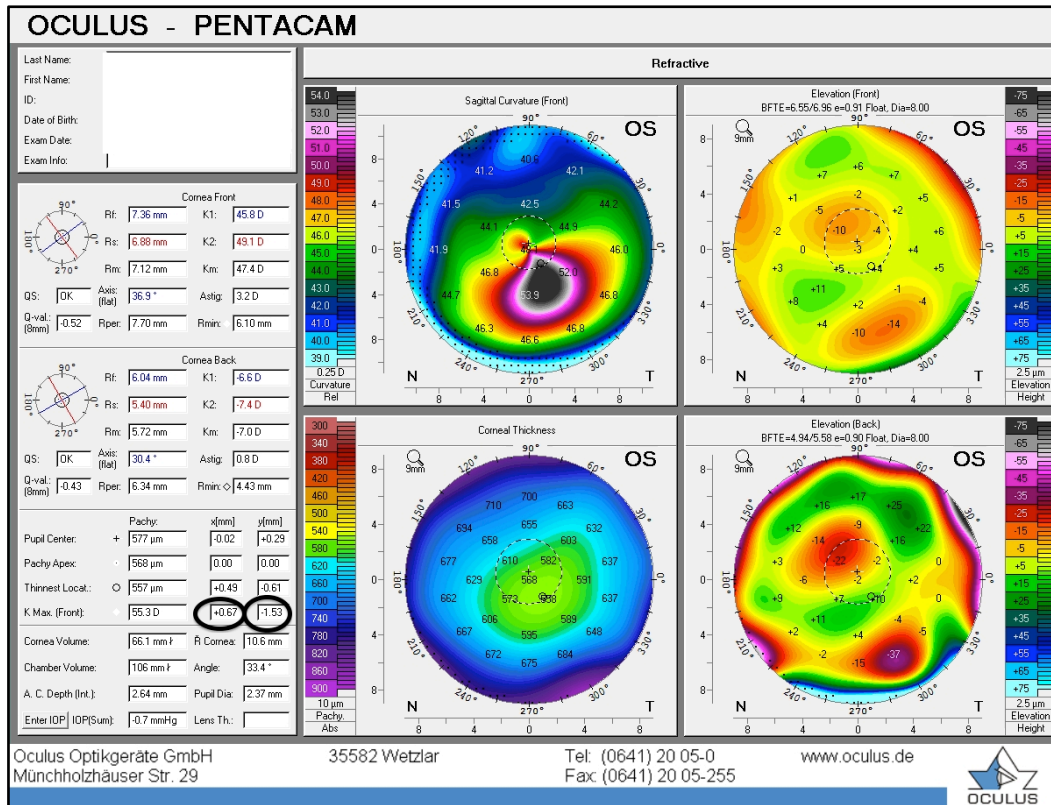
Tab. 24 Hodnoty maximální simulované keratometrie získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích



Graf 22 Hodnoty maximální simulované keratometrie získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v dioptriích

K_{max} - osa x, y

Průměrná hodnota osy x K_{max} před léčbou byla ve skupině A 0,17 mm a ve skupině B -0,15 mm. Průměrná hodnota osy y K_{max} před léčbou byla ve skupině A -1,48 mm a ve skupině B -1,21 mm. Po ročním sledování byla průměrná hodnota osy x K_{max} ve skupině A 0,11 mm a ve skupině B 0,00 mm. Po ročním sledování byla průměrná hodnota osy y K_{max} ve skupině A -1,43 mm a ve skupině B -1,15 mm. Pro K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A (osa x p=0,51148, osa y p=0,96348) ani ve skupině B (osa x p=0,687444, osa y p= 0,277434). (tab. 25 a 26, graf 23 a 24)



Obr. 16 Hodnoty os x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

K_{max} - osa x, y, skupina A

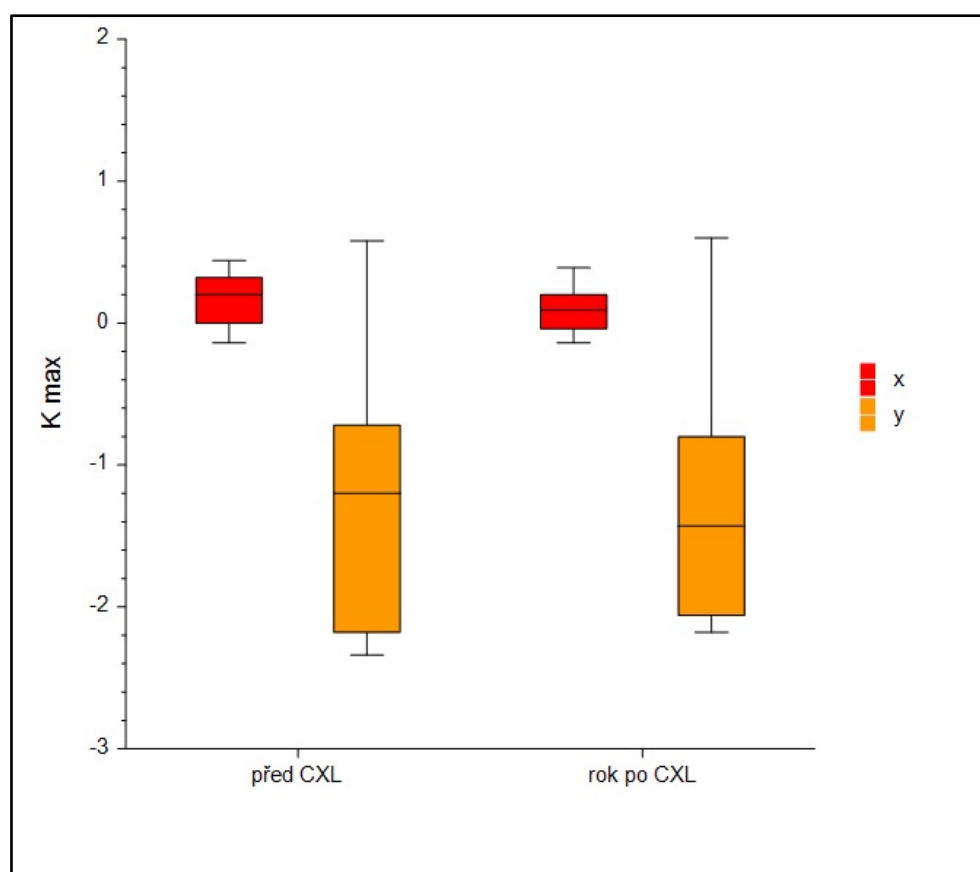
| skupina A | Před CXL | Před CXL | 12M po CXL | 12M po CXL |
|------------------------|----------|----------|------------|------------|
| K_{max} | x | y | x | y |
| průměr | 0,17 | -1,48 | 0,11 | -1,43 |
| SD | 0,19 | 0,58 | 0,18 | 0,6 |
| medián | 0,21 | -1,44 | 0,07 | -1,43 |
| min | -0,14 | -2,34 | -0,14 | -2,18 |
| max | 0,44 | -0,7 | 0,39 | -0,25 |

Tab. 25 Hodnoty os x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech

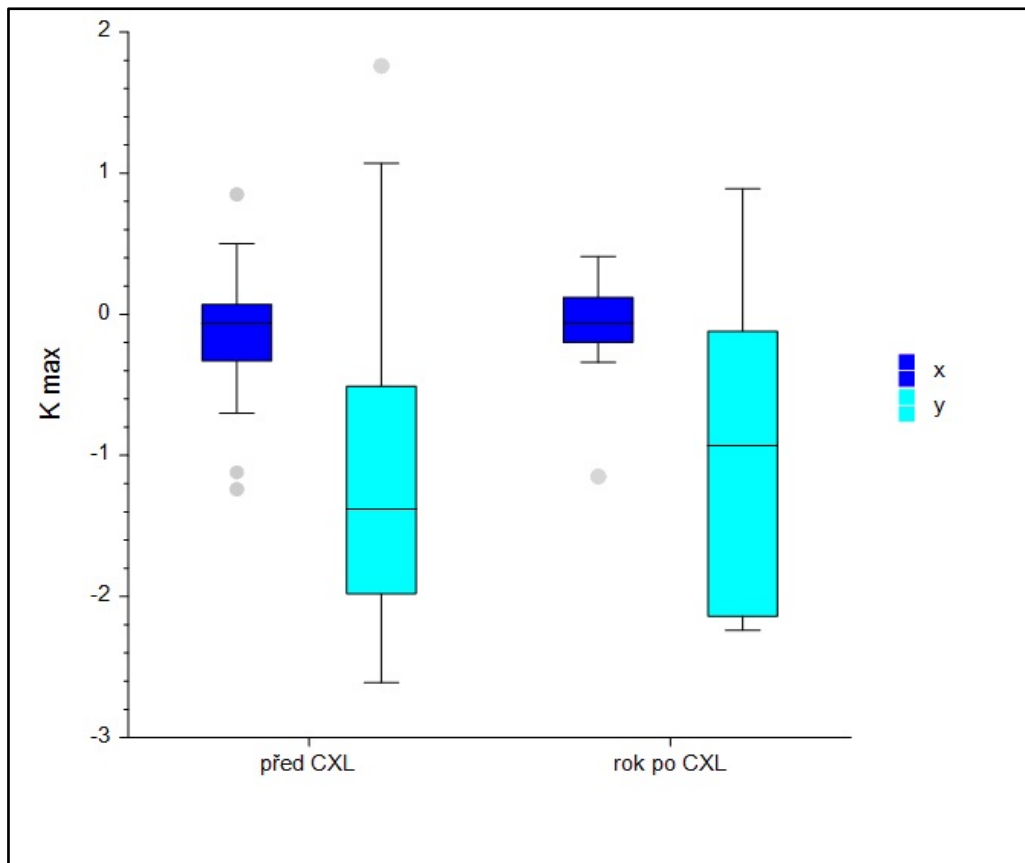
K_{max} - osa x, y, skupina B

| skupina B | Před CXL | Před CXL | 12M po CXL | 12M po CXL |
|------------------|----------|----------|------------|------------|
| K _{max} | x | y | x | y |
| průměr | -0,15 | -1,21 | 0 | -1,15 |
| SD | 0,5 | 1,07 | 0,21 | 0,89 |
| medián | -0,06 | -1,54 | -0,06 | -0,93 |
| min | -1,24 | -2,61 | -0,34 | -2,22 |
| max | 0,85 | 1,76 | 0,41 | 0,26 |

Tab. 26 Hodnoty os x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech



Graf 23 Hodnoty os x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech

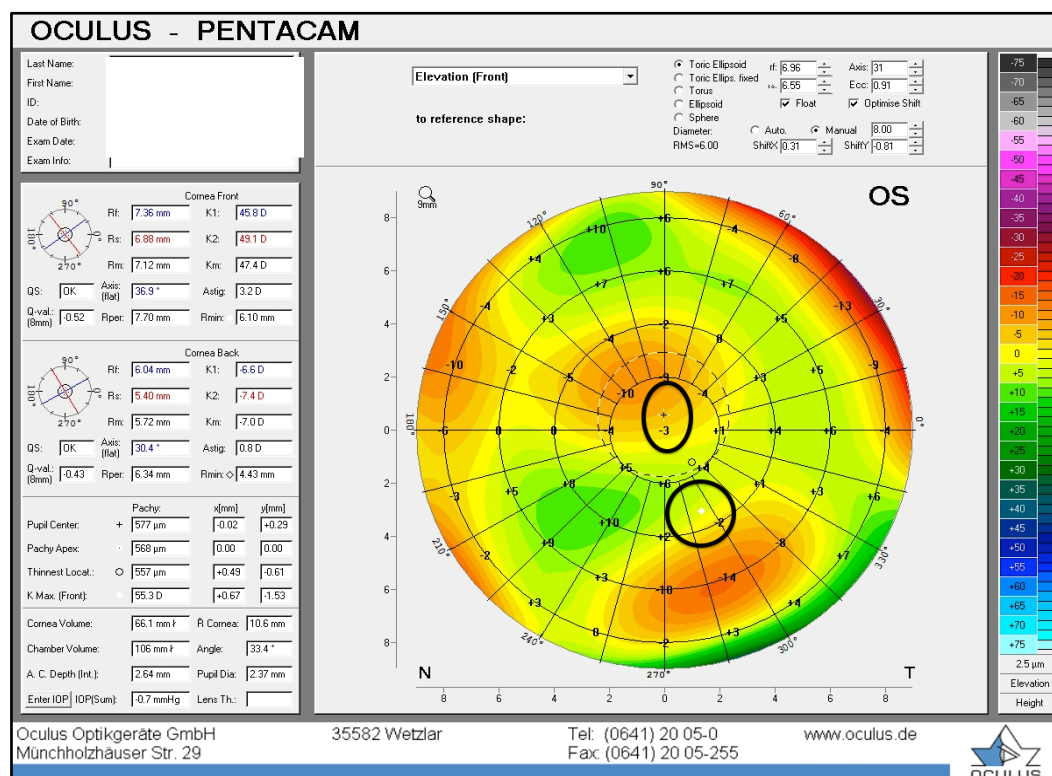


Graf 24 Hodnoty os x a y ve vztahu k maximální simulované keratometrii získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL a 12 měsíců po CXL v milimetrech

Elevační změny předního povrchu (EF)

Průměrná hodnota elevační změny předního povrchu v centru v 3mm zóny před léčbou byla ve skupině A $6,5 \pm 8,5 \mu\text{m}$ a ve skupině B $15,8 \pm 13,5 \mu\text{m}$ a po ročním sledování byla ve skupině A $7,3 \pm 6,2 \mu\text{m}$ a ve skupině B $15,2 \pm 13,4 \mu\text{m}$. Průměrná maximální hodnota elevační změny předního povrchu v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $20,9 \pm 16,2 \mu\text{m}$ a ve skupině B $11,2 \pm 8,1 \mu\text{m}$ a po ročním sledování byla ve skupině A $11,1 \pm 11,4 \mu\text{m}$ a ve skupině B $10,9 \pm 9,5 \mu\text{m}$. Pro elevační změny předního povrchu v centrální oblasti rohovky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,688$) ani ve skupině B ($p=0,611$), mezi skupinami však byl statisticky významný rozdíl (před léčbou $p=0,0218$, za rok po CXL $p=0,0327$). Pro elevační změny předního povrchu pro maximální hodnoty nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,157$) ani ve

skupině B ($p=0,92$), ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,0544$, za rok po CXL $p=0,958$). (tab. 27 a 28, graf 25 a 26) (tab. 29 a 30, graf 27 a 28)



Obr. 17 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, centrální a maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE

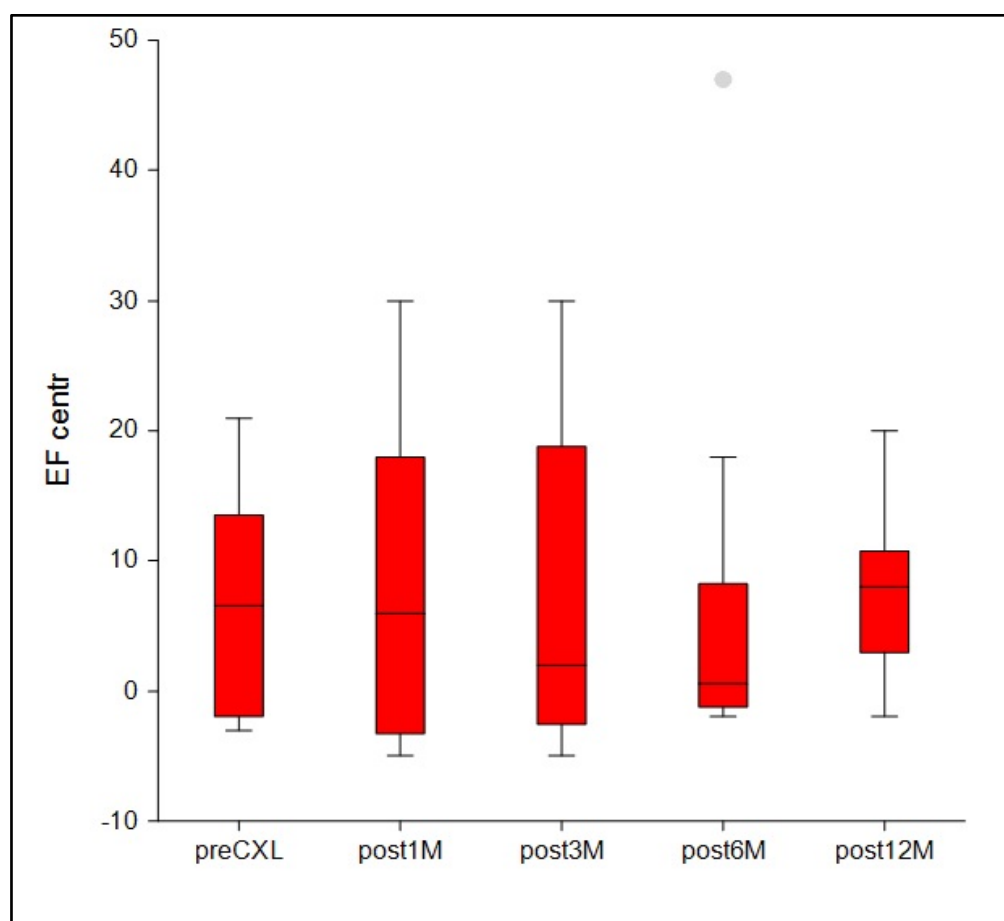
Elevační změny předního povrchu, centrální a maximální hodnoty, skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|-----|------|------|-----|
| EF centr | | | | | |
| průměr | 6,5 | 8,4 | 7,1 | 6,3 | 7,3 |
| SD | 8,5 | 12 | 12,5 | 13,2 | 6,2 |
| medián | 6,5 | 6 | 2 | 0,5 | 8 |
| min | -3 | -5 | -5 | -2 | -2 |
| max | 21 | 30 | 30 | 47 | 20 |

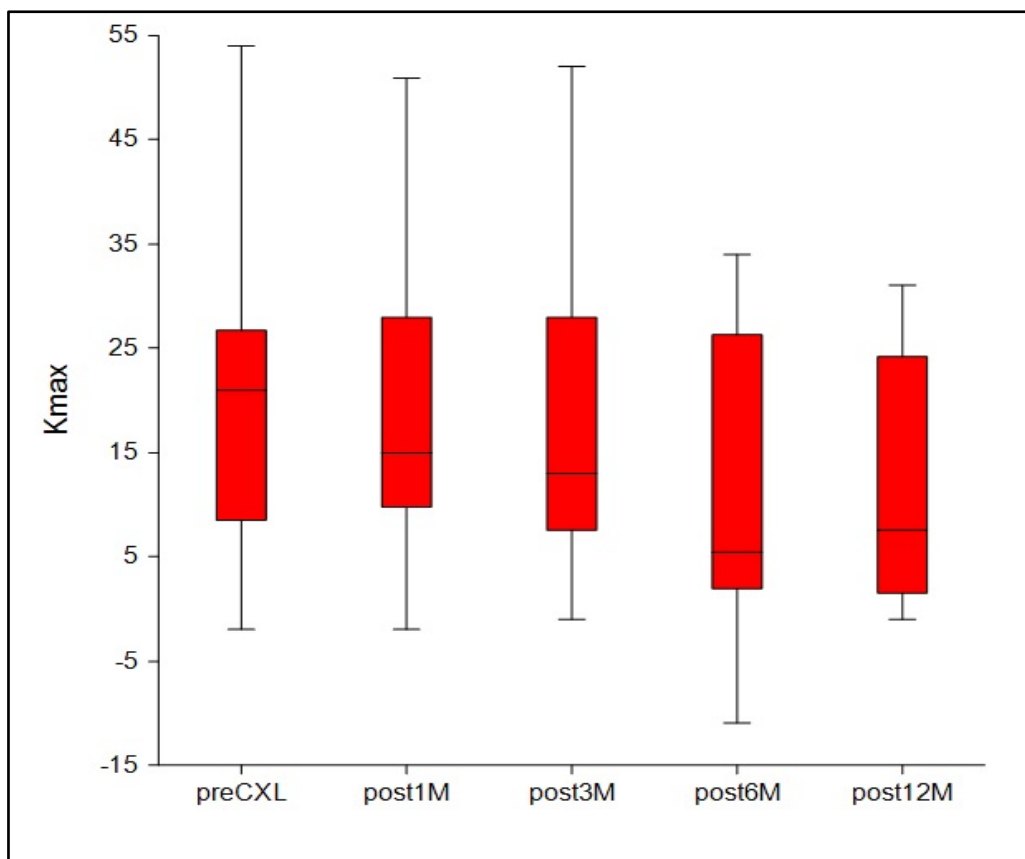
Tab. 27 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|------|------|------|------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 20,9 | 19,2 | 18,1 | 11,9 | 11,1 |
| SD | 16,2 | 14,4 | 15,2 | 14 | 11,4 |
| medián | 21 | 15 | 13 | 5,5 | 7,5 |
| min | -2 | -2 | -1 | -11 | -1 |
| max | 54 | 51 | 52 | 34 | 31 |

Tab. 28 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 25 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, centrální hodnota, získaná měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 26 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

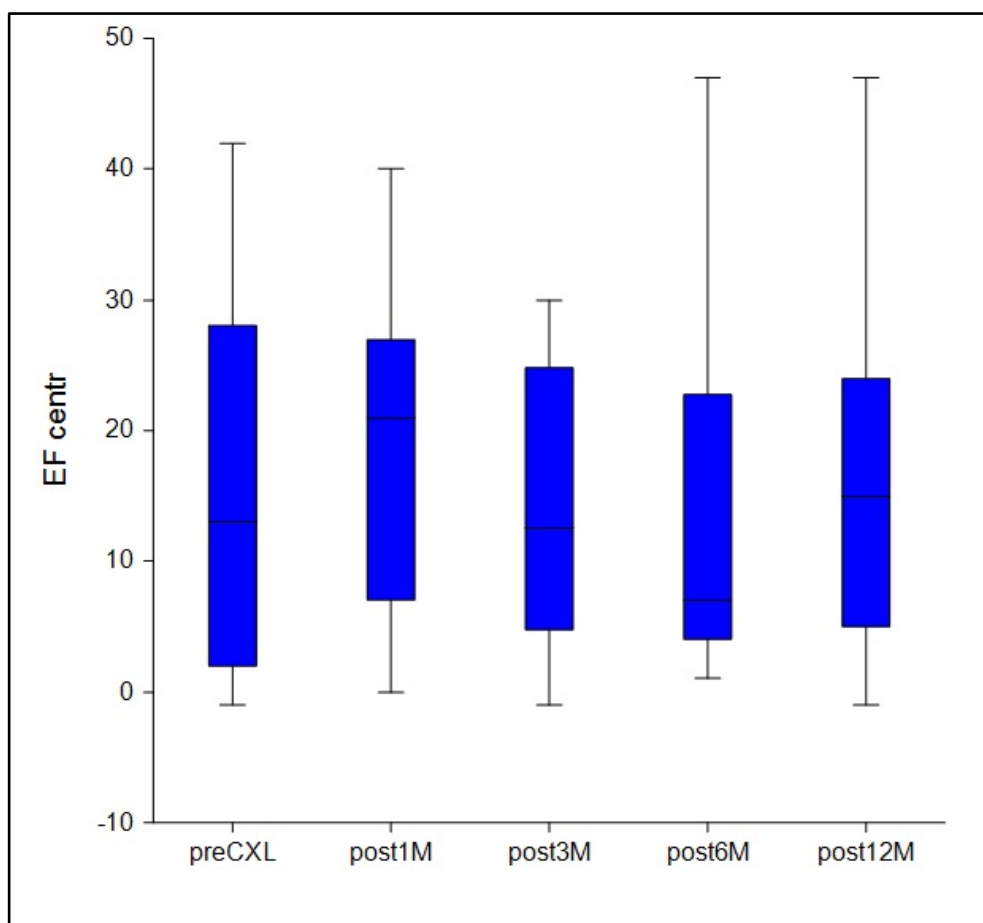
Elevační změny předního povrchu, centrální a maximální hodnoty, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|------|------|------|------|
| EF centr | | | | | |
| průměr | 15,8 | 17,8 | 14 | 13,2 | 15,2 |
| SD | 13,5 | 11,3 | 10,9 | 12,5 | 13,4 |
| medián | 13 | 21 | 12,5 | 7 | 15 |
| min | -1 | 0 | -1 | 1 | -1 |
| max | 42 | 40 | 30 | 47 | 47 |

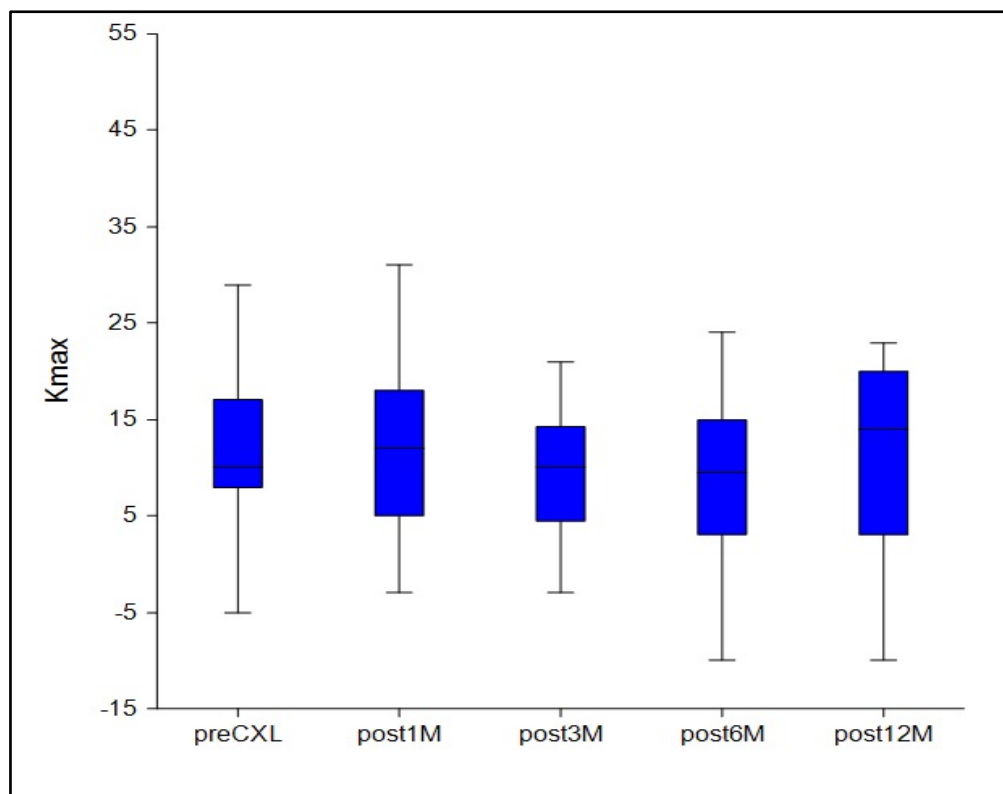
Tab. 29 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|------|-----|-----|------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 11,2 | 12,1 | 9,1 | 9,2 | 10,9 |
| SD | 8,1 | 9,5 | 6,4 | 8,7 | 9,5 |
| medián | 10 | 12 | 10 | 9,5 | 14 |
| min | -5 | -3 | -3 | -10 | -10 |
| max | 29 | 31 | 21 | 24 | 23 |

Tab. 30 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 27 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

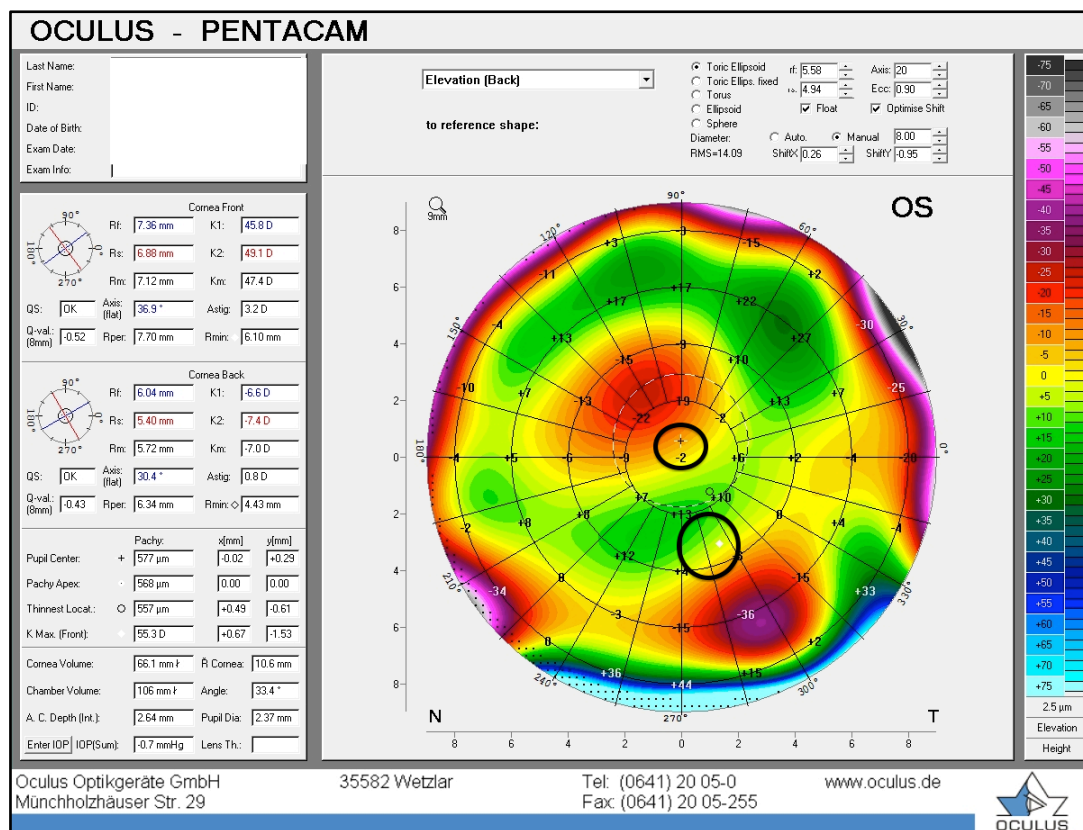


Graf 28 Hodnoty elevační změny předního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

Elevační změny zadního povrchu (EB)

Průměrná hodnota elevační změny zadního povrchu v centru v 3mm zóny před léčbou byla ve skupině A $8,9 \pm 12,8 \mu\text{m}$ a ve skupině B $24,7 \pm 18,1 \mu\text{m}$ a po ročním sledování byla ve skupině A $12,4 \pm 11,9 \mu\text{m}$ a ve skupině B $21,7 \pm 19,4 \mu\text{m}$.

Průměrná maximální hodnota elevační změny zadního povrchu v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $27,1 \pm 19,5 \mu\text{m}$ a ve skupině B $17 \pm 23,3 \mu\text{m}$ a po ročním sledování byla ve skupině A $17,9 \pm 18 \mu\text{m}$ a ve skupině B $10,9 \pm 20,6 \mu\text{m}$. Pro elevační změny zadního povrchu v centrální oblasti rohovky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,296$), ve skupině B ($p=0,299$), ani mezi skupinami po roce ($p=0,178$). Pro elevační změny zadního povrchu pro maximální hodnoty nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani ve skupině A ($p=0,103$), ve skupině B ($p=0,304$) ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,058$, po léčbě $p=0,32$). (tab. 31 a 32, graf 29 a 30) (tab. 33 a 34, graf 31 a 32)



Obr. 18 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, centrální a maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE

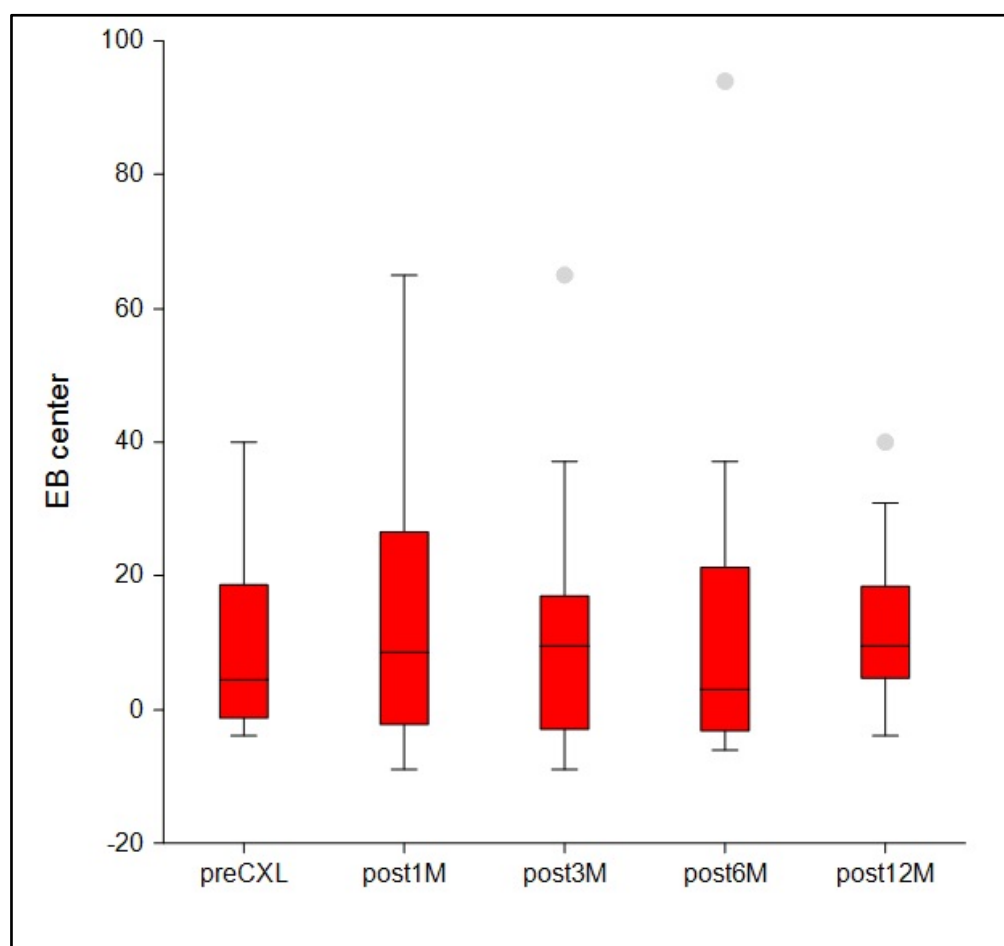
Elevační změny zadního povrchu, centrální a maximální hodnoty, skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|------|------|------|------|
| EB centr | | | | | |
| průměr | 8,9 | 14,2 | 11,4 | 13,4 | 12,4 |
| SD | 12,8 | 21,6 | 19,7 | 26,6 | 11,9 |
| medián | 4,5 | 8,5 | 9,5 | 3 | 9,5 |
| min | -4 | -9 | -9 | -6 | -4 |
| max | 40 | 65 | 65 | 94 | 40 |

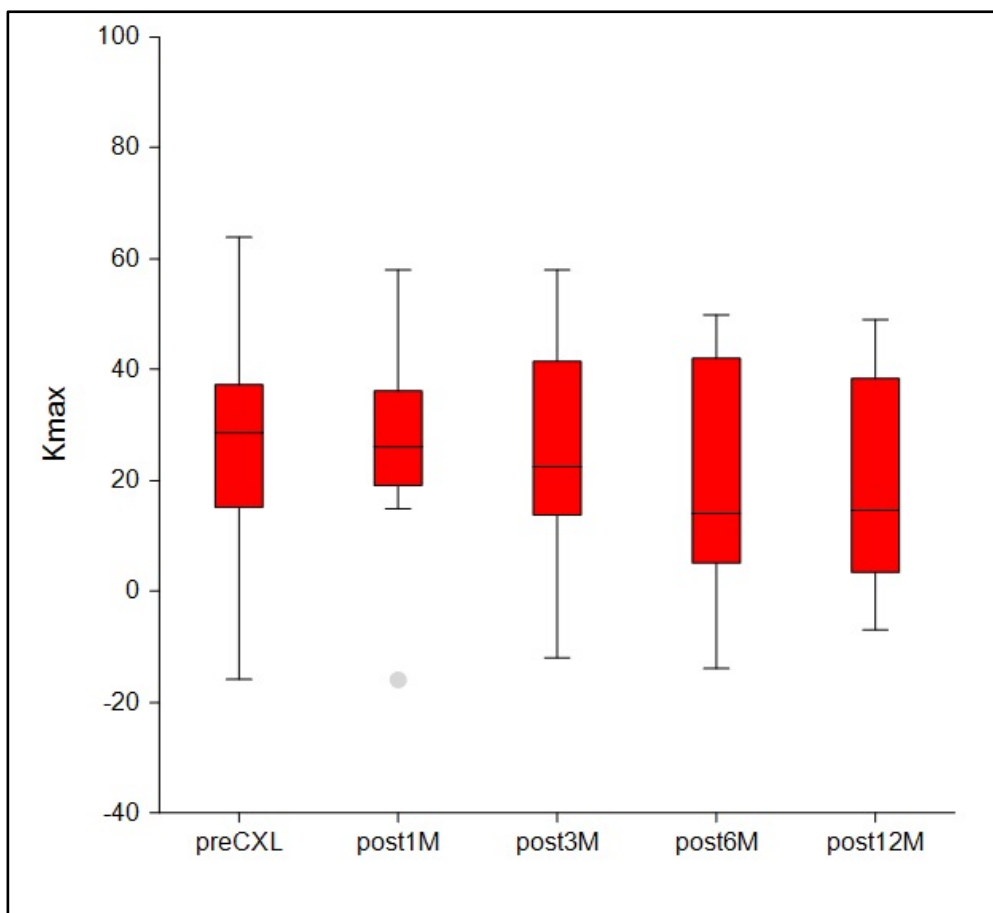
Tab. 31 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|------|------|------|------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 27,1 | 27 | 25,3 | 18,6 | 17,9 |
| SD | 19,5 | 17,9 | 18,7 | 20,2 | 18 |
| medián | 28,5 | 26 | 22,5 | 14 | 14,5 |
| min | -16 | -16 | -12 | -14 | -7 |
| max | 64 | 58 | 58 | 50 | 49 |

Tab. 32 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 29 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 30 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

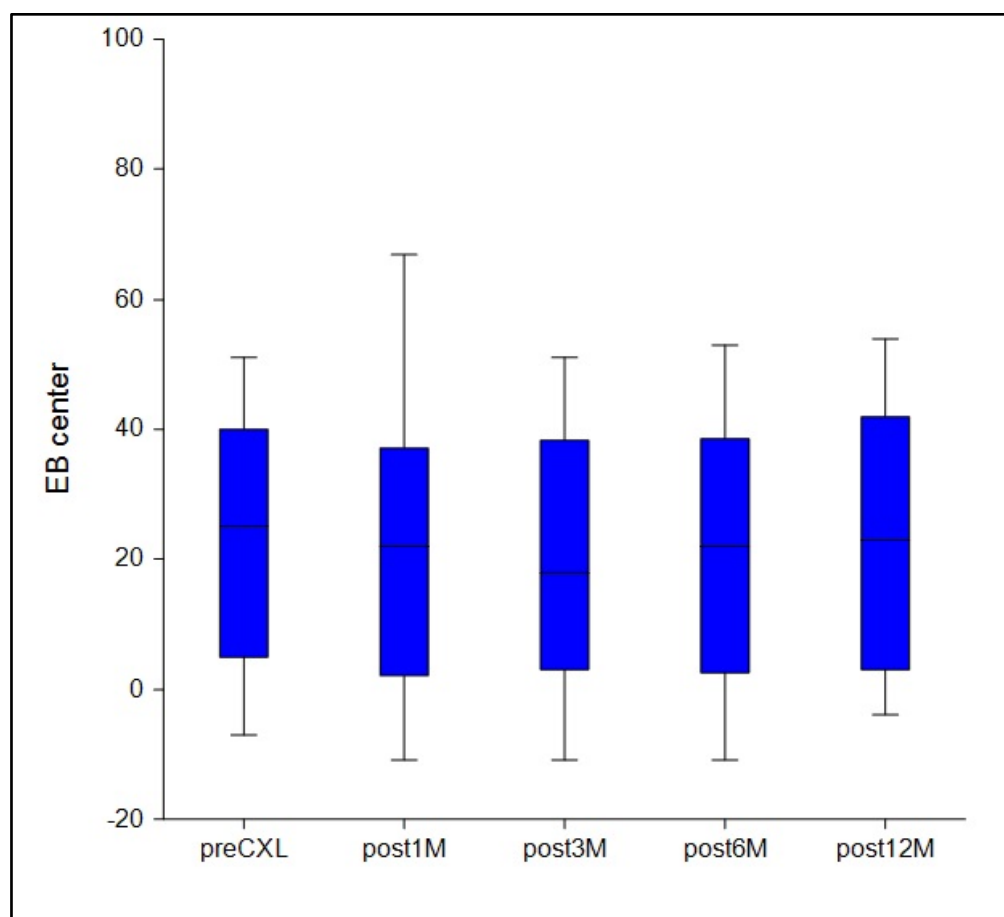
Elevační změny zadního povrchu, centrální a maximální hodnoty, skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|-----------------|----------|------|------|------|------|
| EB centr | | | | | |
| průměr | 24,7 | 20,4 | 19,7 | 20,7 | 21,7 |
| SD | 18,1 | 22,3 | 18,8 | 19,1 | 19,4 |
| medián | 25 | 22 | 18 | 22 | 23 |
| min | -7 | -11 | -11 | -11 | -4 |
| max | 51 | 67 | 51 | 53 | 54 |

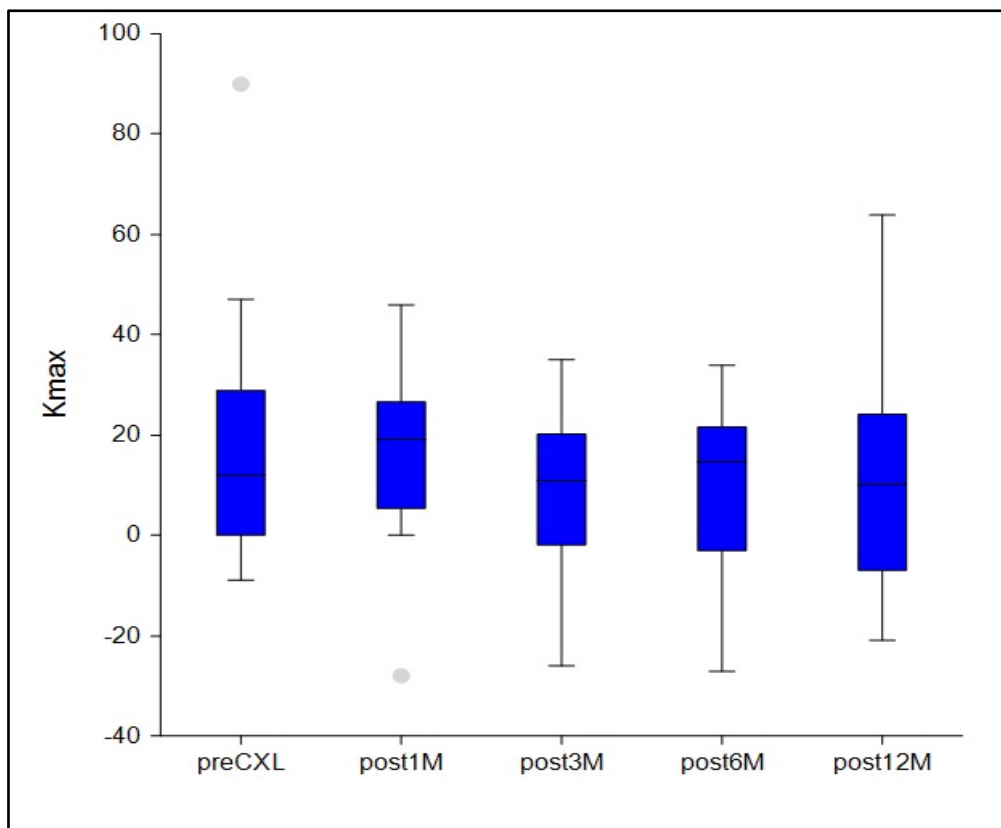
Tab. 33 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|------|-----|------|------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 17 | 15,1 | 9,7 | 9,8 | 10,9 |
| SD | 23,3 | 16,4 | 15 | 17,9 | 20,6 |
| medián | 12 | 19 | 11 | 14,5 | 10 |
| min | -9 | -28 | -26 | -27 | -21 |
| max | 90 | 46 | 35 | 34 | 64 |

Tab. 34 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 31 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, centrální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

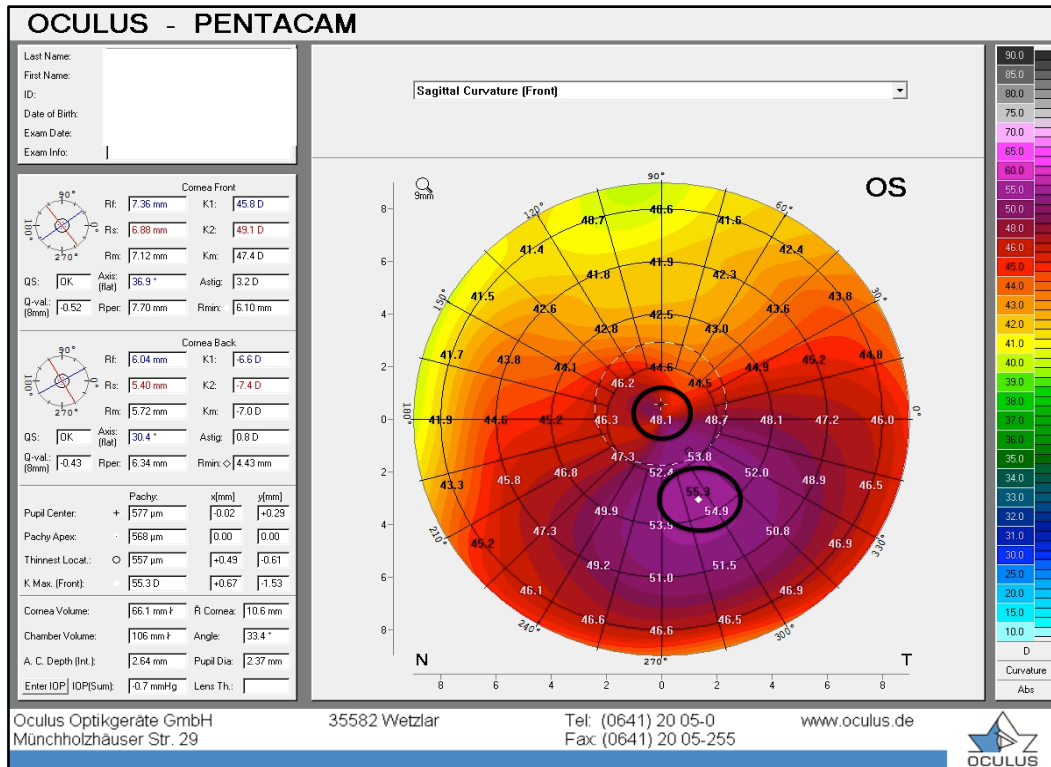


Graf 32 Hodnoty elevační změny zadního povrchu rohovky, maximální hodnota, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení v režimu BFTE, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

Sagitální zobrazení (SCF), centrální hodnota, K_{max}

Průměrná hodnota změny centrální keratometrie na sagitálním zobrazení v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $47,74 \pm 4,46$ D a ve skupině B $48,48 \pm 6,25$ D a po ročním sledování ve skupině A $48,61 \pm 5,8$ D a ve skupině B $47,76 \pm 5,57$ D. Průměrná hodnota maximální keratometrie na sagitálním zobrazení rohovky v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $53,66 \pm 6,22$ D a ve skupině B $52,74 \pm 6$ D a po ročním sledování byla ve skupině A $53,98 \pm 6,76$ D a ve skupině B $52,3 \pm 5,59$ D. Pro změny centrální keratometrie na sagitálním zobrazení nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani ve skupině A ($p=0,571$), ve skupině B ($p=0,235$) ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,985$, za rok po CXL $p=0,675$). Pro změny maximální keratometrie na sagitálním zobrazení nebyl nalezen statisticky

významný rozdíl ani ve skupině A ($p=0,247$), ve skupině B ($p=0,747$) ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,673$, za rok $p=0,441$). (tab. 35 a 36, graf 33 a 34) (tab. 37 a 38, graf 35 a 36)



Obr. 19 Hodnoty centrální a maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení

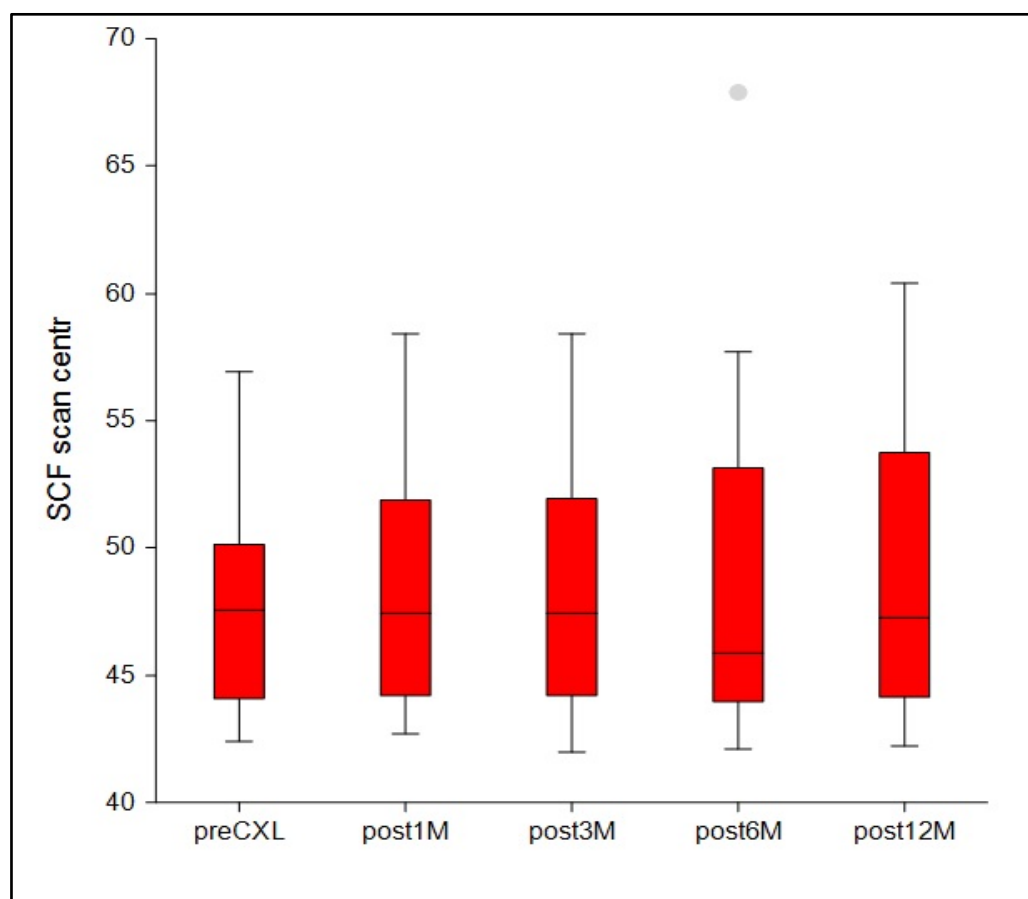
Sagitální zobrazení, centrální hodnota, K_{max} , skupina A

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| SCF | | | | | |
| průměr | 47,74 | 48,23 | 47,93 | 48,71 | 48,61 |
| SD | 4,46 | 4,69 | 4,79 | 7,14 | 5,8 |
| medián | 47,55 | 47,45 | 47,45 | 45,9 | 47,25 |
| min | 42,4 | 42,7 | 42 | 42,1 | 42,2 |
| max | 56,9 | 58,4 | 58,4 | 67,9 | 60,4 |

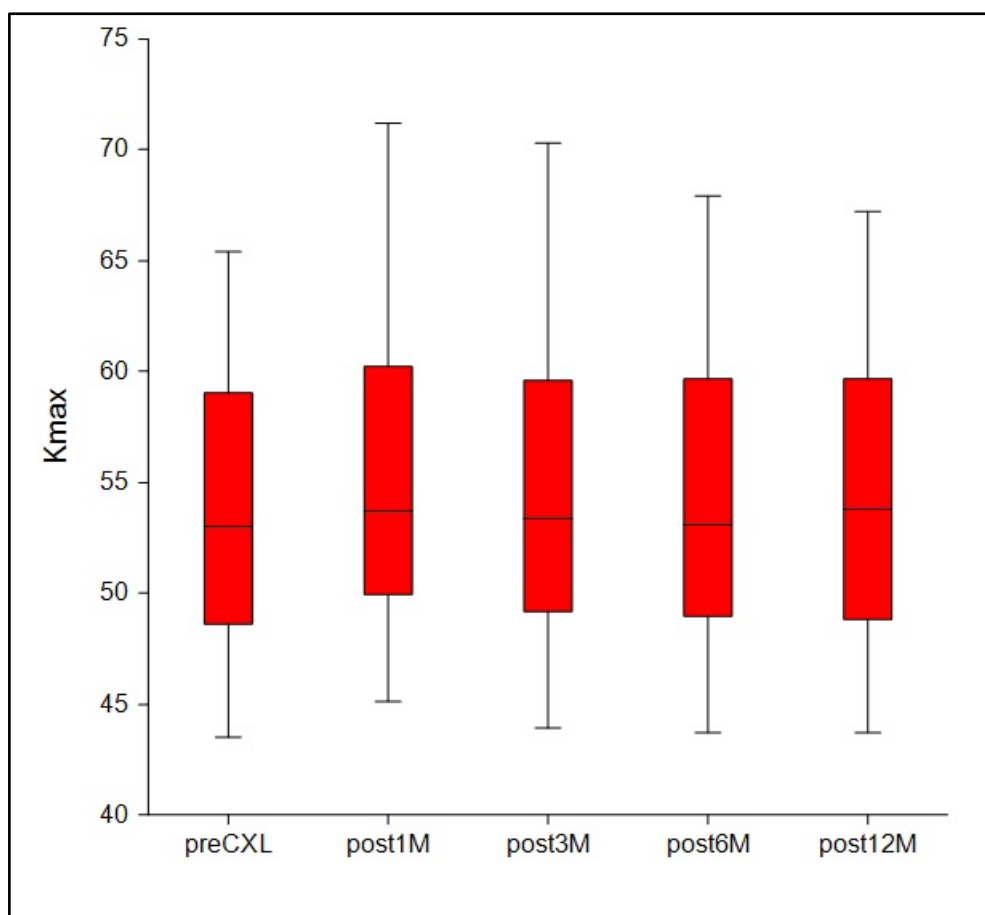
Tab. 35 Hodnoty centrální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina A | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 53,66 | 54,82 | 54,25 | 53,98 | 53,98 |
| SD | 6,22 | 7,05 | 7,15 | 6,84 | 6,76 |
| medián | 53 | 53,7 | 53,4 | 53,1 | 53,8 |
| min | 43,5 | 45,1 | 43,9 | 43,7 | 43,7 |
| max | 65,4 | 71,2 | 70,3 | 67,9 | 67,2 |

Tab. 36 Hodnoty maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 33 Hodnoty centrální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 34 Hodnoty maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

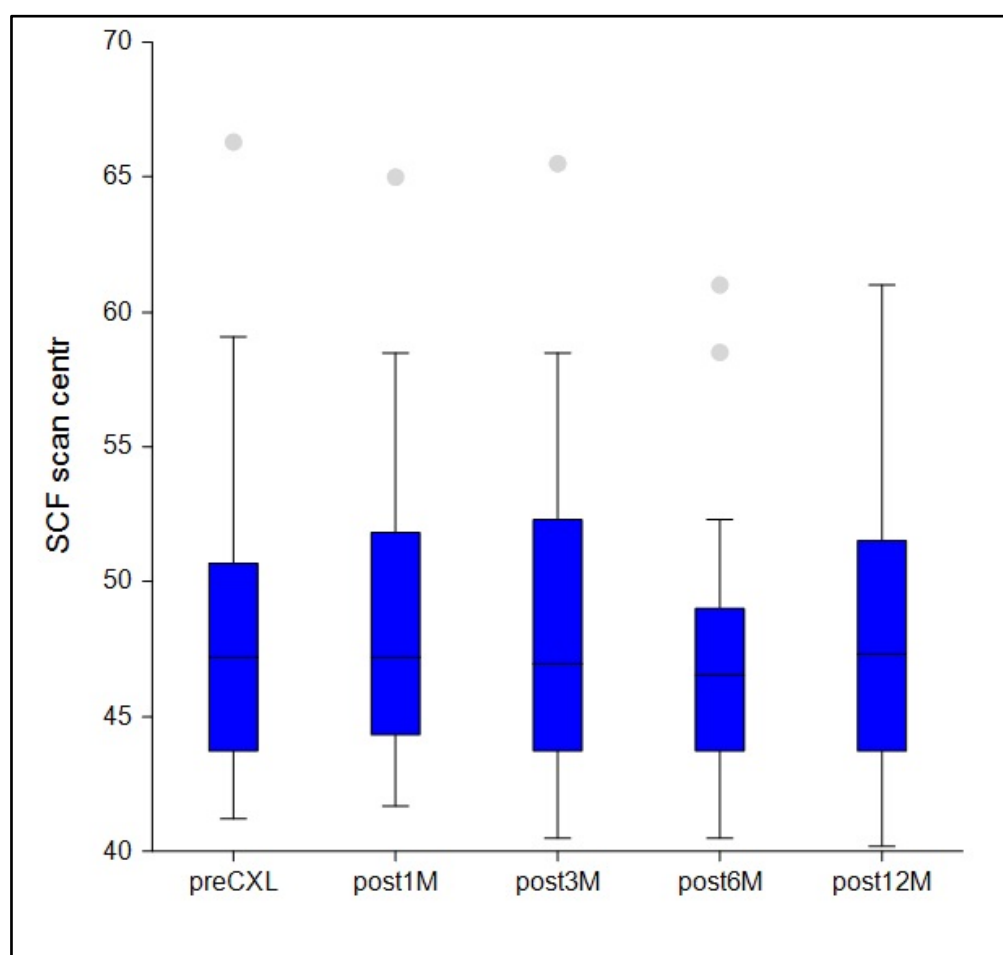
Sagitální zobrazení, centrální hodnota, K_{max} , skupina B

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| SCF | | | | | |
| průměr | 48,48 | 49,06 | 48,49 | 47,48 | 47,76 |
| SD | 6,25 | 6 | 6,62 | 5,39 | 5,57 |
| medián | 47,2 | 47,2 | 46,95 | 46,55 | 47,3 |
| min | 41,2 | 41,7 | 40,5 | 40,5 | 40,2 |
| max | 66,3 | 65 | 65,5 | 61 | 61 |

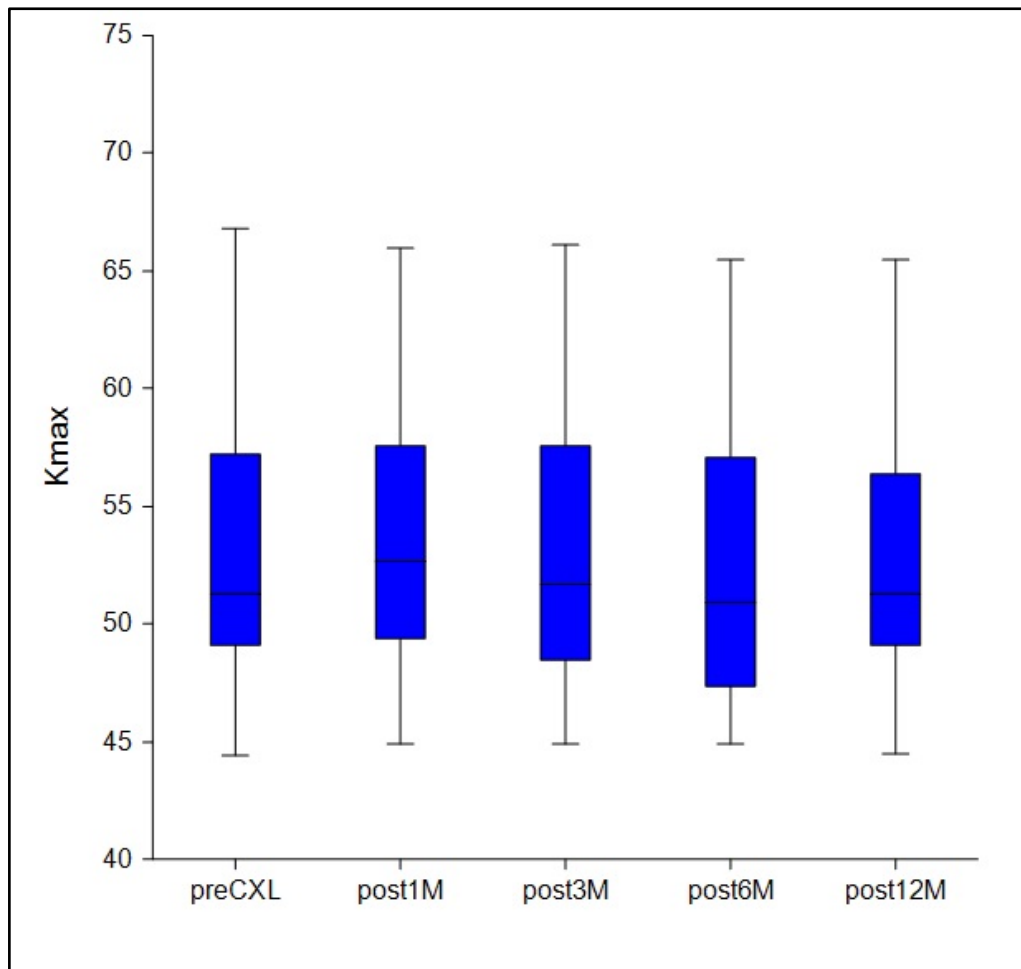
Tab. 37 Hodnoty centrální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

| skupina B | Před CXL | 1M | 3M | 6M | 12M |
|------------------------|----------|-------|-------|-------|------|
| K_{max} | | | | | |
| průměr | 52,74 | 53,78 | 53,32 | 52,26 | 52,3 |
| SD | 6 | 5,83 | 6,15 | 5,84 | 5,59 |
| medián | 51,3 | 52,7 | 51,7 | 50,9 | 51,3 |
| min | 44,4 | 44,9 | 44,9 | 44,9 | 44,5 |
| max | 66,8 | 66 | 66,1 | 65,5 | 65,5 |

Tab. 38 Hodnoty maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

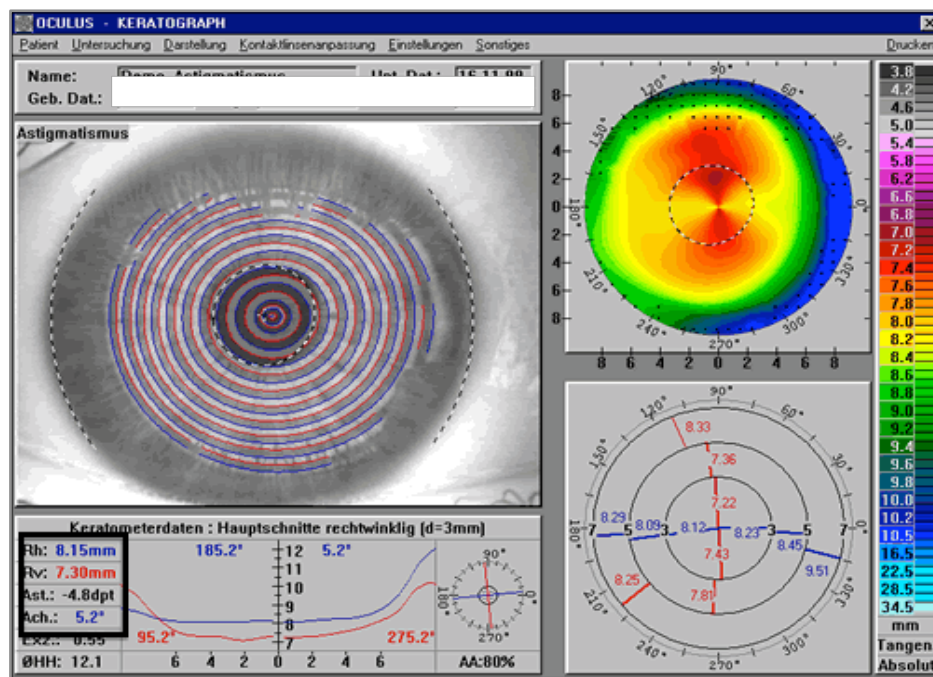
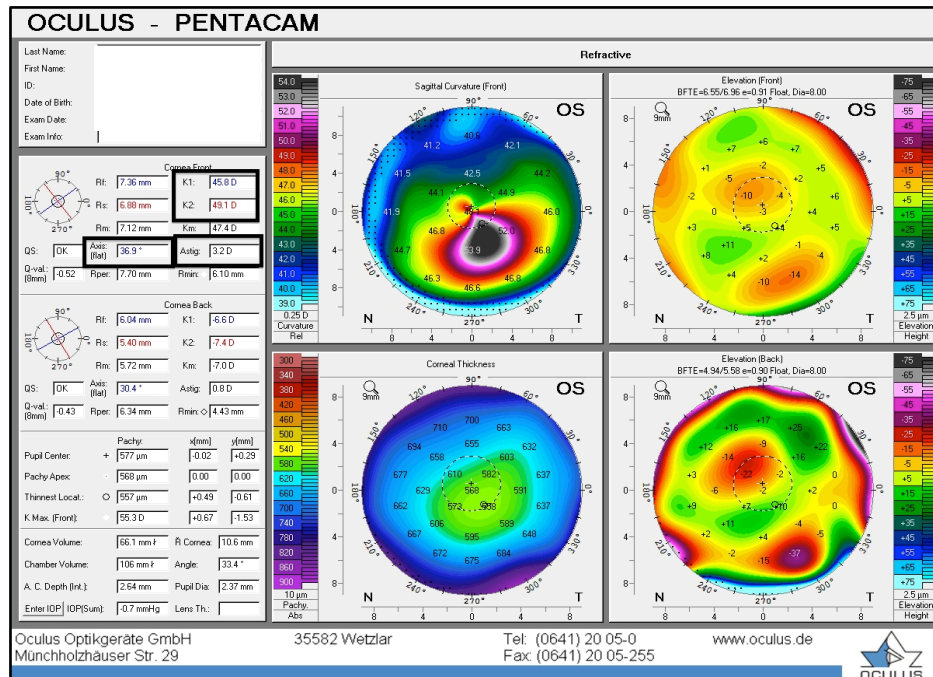


Graf 35 Hodnoty centrální a maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech



Graf 36 Hodnoty maximální keratometrie na sagitálním zobrazení, získané měřením na Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty před CXL, 1, 3, 6 a 12 měsíců po CXL v mikrometrech

Korelace topografických parametrů získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacam a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph



Obr. 20 Korelace topografických parametrů získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacam a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph

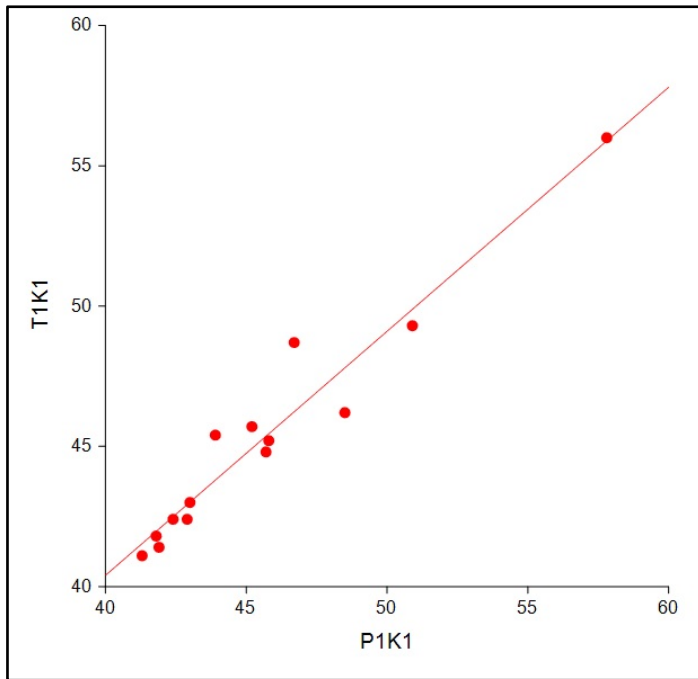
Keratometrické hodnoty K1, K2, (optická mohutnost v plochém a strmém meridiánu), hodnoty astigmatismu a jeho ploché osy byly získány měřením na Keratotopografu Oculus na bázi Placidova disku (Oculus Keratotopograf 2, Německo) a pomocí optické tomografie na bázi Scheimpflugova zobrazení na přístroji Pentacam (Pentacam Classic, Oculus, Wetzlar, Německo). (obr. 20)

Ve skupině A byla nalezena středně silná korelace v hodnotách ploché osy astigmatismu 0,73 ($p=0,00293$), silná korelace v hodnotách keratometrie K1 0,95 ($p<0,001$) a K2 0,92 ($p<0,001$). Byla nalezena slabá (nepřímá) korelace $-0,44$ ($p=0,119$) v hodnotách výšky astigmatismu získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na báze Placidova disku na přístroji Keratograph jeden rok po CXL. Ve skupině B byla nalezena středně silná 0,56 ($p=0,0287$) korelace v hodnotách ose astigmatismu, silná korelace v hodnotách keratometrie K1 0,87 ($p<0,001$) a K2 0,91 ($p<0,001$) a slabá (nepřímá) korelace $-0,66$ ($p=0,00726$) v hodnotách výšky astigmatismu získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na bázi Placidova disku na přístroji Keratograph 1 rok po CXL. Mezi skupinami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ($p<0,05$). (tab 39 a 40, graf 37–44)

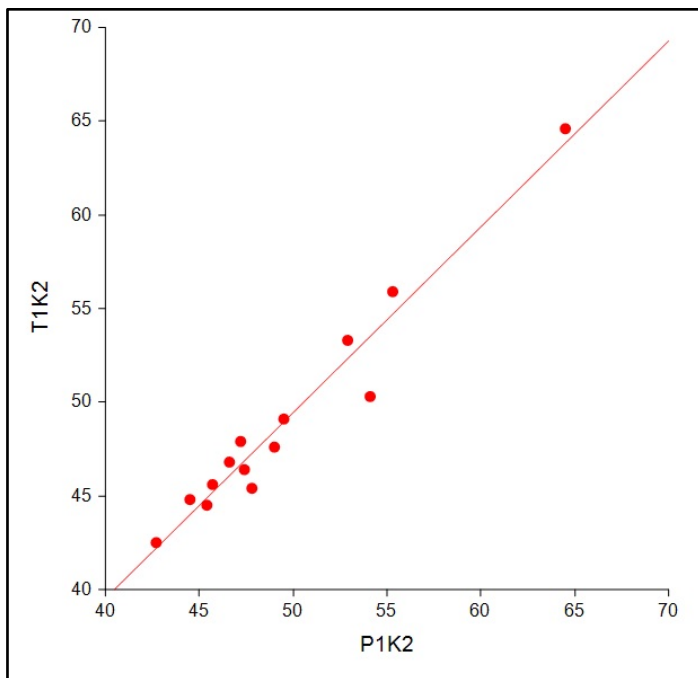
Korelace topografických parametrů získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na báze Placidova disku na přístroji Keratograph, 1rok po CXL, skupina A

| skupina A | graf | korelace | p | souvislost |
|-----------|-------------------|----------|-------------|-----------------|
| A1 | T1axflat/P1axflat | 0,73 | $p=0,00293$ | středně silná |
| A2 | T1K1/P1K1 | 0,95 | $p<0,001$ | silná |
| A3 | T1K2/P1K2 | 0,92 | $p<0,001$ | silná |
| A4 | T1ast/P1ast | -0,44 | $p=0,119$ | slabá (nepřímá) |

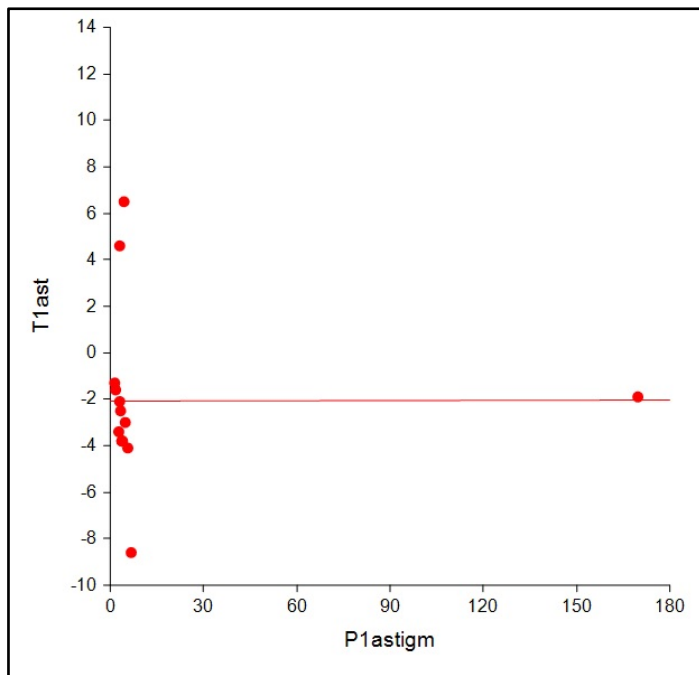
Tab. 39 Hodnoty ploché a strmé keratometrie, astigmatismu a jeho ploché osy, získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty korelace rok po CXL



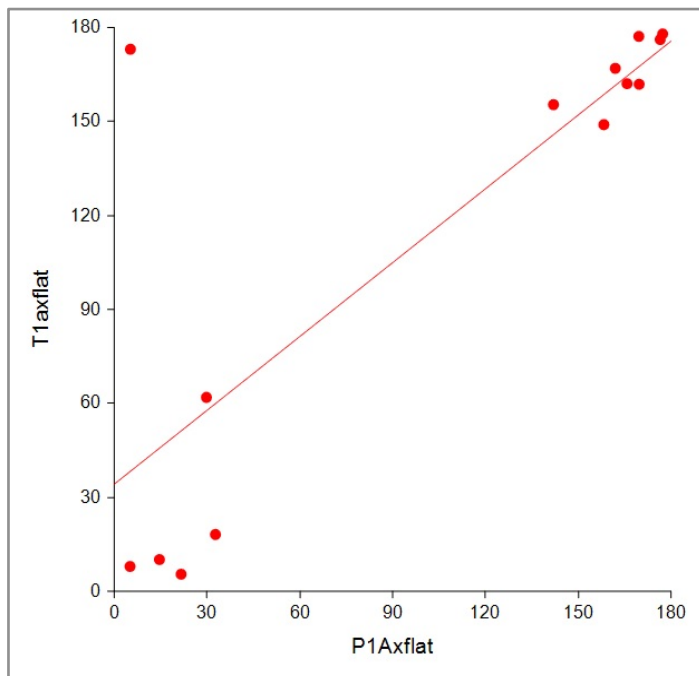
Graf 37 Hodnoty ploché keratometrie získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,95 ($p < 0,001$), silná souvislost



Graf 38 Hodnoty strmé keratometrie získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,92 ($p < 0,001$), silná souvislost



Graf 39 Hodnoty astigmatismu získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,44 ($p = 0,119$), slabá souvislost (nepřímá)

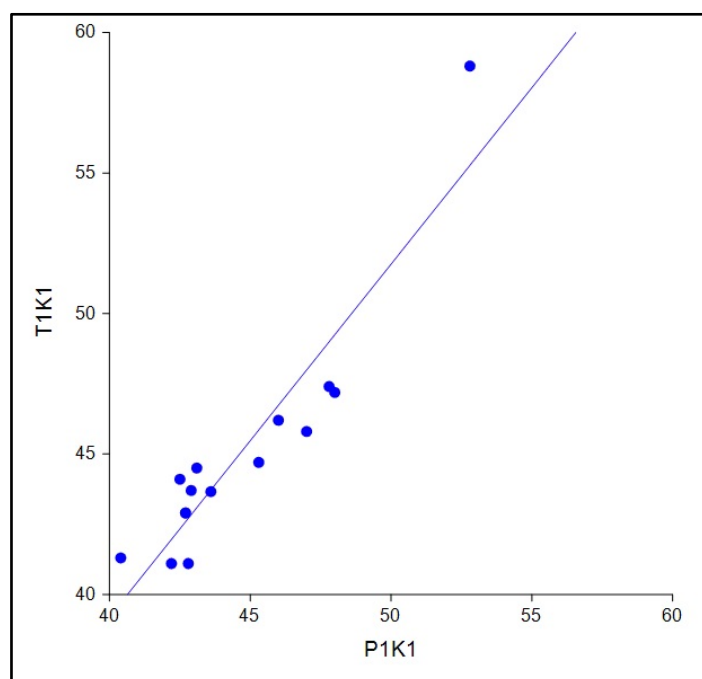


Graf 40 Hodnoty ploché osy astigmatismu získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina A, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,73 ($p = 0,00293$), středně silná souvislost

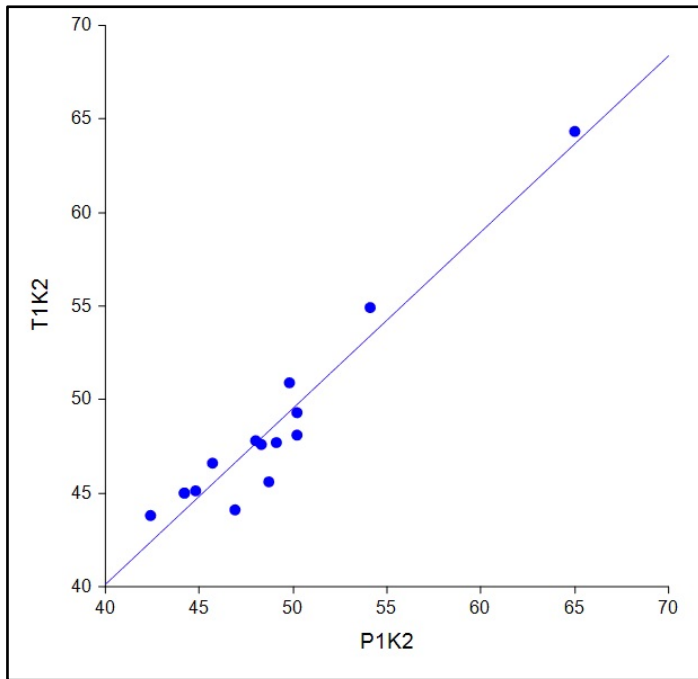
Korelace topografických parametrů získaných Scheimpflugovým zobrazením na Pentacamu a zobrazením na báze Placidova disku na přístroji Keratograph, 1 rok po CXL, skupina B

| skupina B | graf | korelace | p | závislost |
|-----------|-------------------|----------|-----------|-------------------|
| B1 | T1axflat/P1axflat | 0,56 | p=0,0287 | středně silná |
| B2 | T1K1/P1K1 | 0,87 | p<0,001 | silná |
| B3 | T1K2/P1K2 | 0,91 | p<0,001 | silná |
| B4 | T1ast/P1ast | -0,66 | p=0,00726 | střední (nepřímá) |

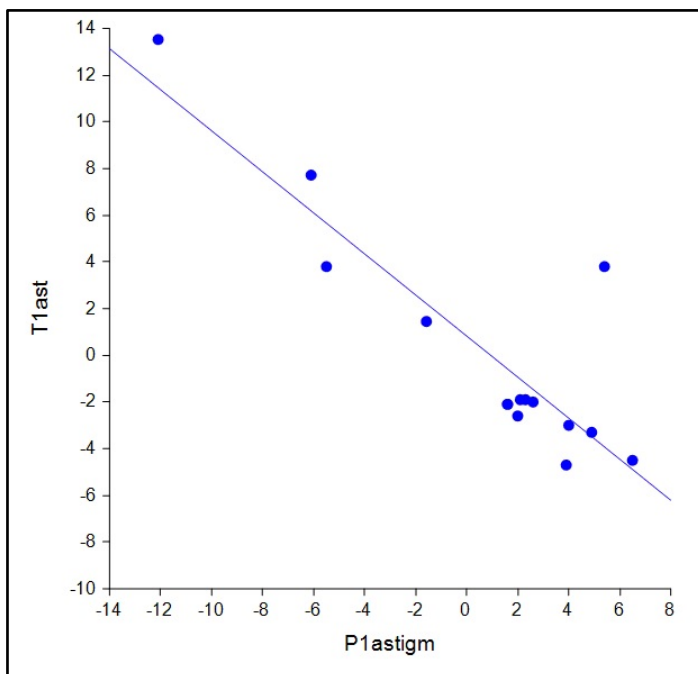
Tab. 40 Hodnoty ploché a strmé keratometrie, astigmatismu a jeho ploché osy, získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty korelace rok po CXL



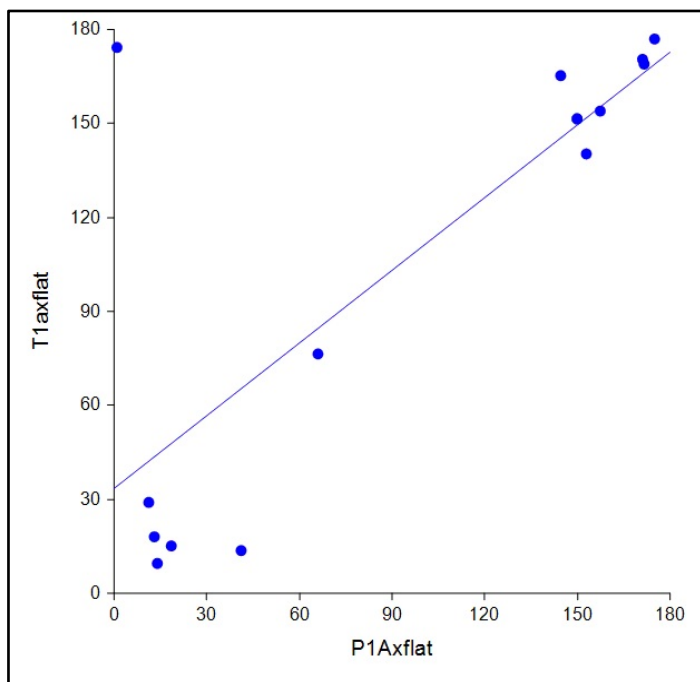
Graf 41 Hodnoty ploché keratometrie získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,87 ($p<0,001$), silná souvislost



Graf 42 Hodnoty strmé keratometrie získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,91 ($p < 0,001$), silná souvislost



Graf 43 Hodnoty astigmatismu získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,66 ($p = 0,00726$), středně silná souvislost (nepřímá)



Graf 44 Hodnoty ploché osy astigmatismu získané měřením na Keratografu a Scheimpflugovém zobrazení, skupina B, hodnoty korelace rok po CXL, Spearmanův korelační koeficient: 0,56 ($p = 0,0287$), středně silná souvislost

Komplikace

Existuje celá řada studií k prokázání účinnosti CXL, hodnocení výskytu komplikací a selhání této metody popisuje jen velmi málo z nich. Přesto tyto komplikace mohou být zásadní a ireverzibilní. Komplikace jsme rozdělili do tří kategorií: komplikace přechodné, permanentní a fatální komplikace. (Tab. 41) U pacientů v obou skupinách jsme zaznamenali stupeň vnímání bolesti a četnost výskytu komplikací. Sledovali jsme počet dní hojení epitelu, perzistující epiteliální defekt (PED), haze, přítomnost stromálního jizvení, rozvinutí infekční ev. neinfekční keratitidy, ztrátu endoteliálních buněk a z fatálních komplikací jsme sledovali riziko rozvinutí keratolýzy s následnou perforací rohovky. Nepozorovali jsme žádnou z uvedených komplikací. Progresi onemocnění jsme zaznamenali u tří pacientů, které jsme i přes vysoké hodnoty keratometrie indikovali k provedení CXL ve 3. stadiu. Měli zachované

dobré vidění a tloušťka rohovky dovoľovala provedení zákroku. Tito pacienti byli již od začátku považováni za rizikové vzhledem k progresi onemocnění, proto byli pečlivě informováni o operačním zákroku s možnou pooperační progresí ektazie a následnou potřebou transplantace rohovky (DALK, PKP).

| Komplikace | | |
|-------------|-----------------------------|---|
| | Progrese keratokonu | 3 |
| Přechodní | PED | 0 |
| | Haze | 0 |
| | Keratitida | 0 |
| Permanentní | Stromální jizvení | 0 |
| | Ztráta endoteliálních buněk | 0 |
| Fatální | Keratolýza | 0 |
| | Perforace rohovky | 0 |

Tab. 41 Četnost komplikací po CXL v obou skupinách

DISKUZE

Příčiny keratokonu nejsou zcela jasné. Víme, že poruchy kolagenových spojů a metabolismu proteoglykanů vedou ke snížení biomechanické pevnosti, progresivní interlamelární propustnosti a prořídnutí rohovky, které mají obvykle za následek 12–21 % keratokonických pacientů, kteří potřebují transplantaci rohovky. Keratokonus pořád patří mezi hlavní indikace k transplantaci rohovky. Poruchy zesíťování rohovky¹⁵⁷ a významné snížení biomechanické síly o 36 %⁵ byly popsány tak, že důvody pro léčbu CXL jsou opodstatněné. Léčba zesíťováním kolagenu rohovky je zaměřena na patogenetické příčiny keratokonu a mění vnitřní biomechanické vlastnosti kolagenu rohovky. V souladu s touto patogenetickou hypotézou je zřejmé, že keratokonus je velmi vzácný u diabetes mellitus a pokročilého věku díky věkem podmíněnému zesíťování kolagenu,¹⁶⁰ kdy stárnutím podmíněný zesíťovací efekt souvisí s větším průměrem kolagenních vláken.³⁵

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 keratokonu. Mírné zploštění nebo dokonce „push-up“ efekt konu 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 keratokonem není zanedbatelná.

V roce 2011 v USA byly průměrné roční náklady na rutinní péči o zrak pacienta s krátkozrakostí odhadnuty na 200 dolarů, zatímco předpokládaná roční cena u pacienta s keratokonem byla 653 dolarů.^{153,146} Průměrné trvání onemocnění je více než 37 let. Náklady na nemoc u jednoho pacienta s keratokonem včetně návštěv kliniky, zahrnující poplatky, kontaktní čočky, chirurgické zákroky a možné komplikace, se odhaduje na 25 168 dolarů.¹⁴⁶ 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 V roce 2015 Sandvik a kol.¹⁶⁴ vyhodnotili frekvenci potřeby transplantace rohovky po zavedení CXL u pacientů s keratokonem. Porovnali dvě různá období: období 1– před érou CXL (2005 až 2006) a období 2– po zavedení léčby CXL (2013 až 2014). Vyhodnotili věk, pohlaví a stadium keratokonu podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace. Zjistili, že celkový počet transplantací rohovky provedených během období před érou CXL byl 137 a z důvodu keratokonu byla keratoplastika indikována u 55 očí. Odpovídající čísla v období po zavedení CXL byly 231 a 26 očí. Tento rozdíl v počtu keratoplastik z důvodu keratokonu v obou obdobích byl statisticky významný. Nejistili žádné významné rozdíly v rozdělení podle věku a pohlaví mezi oběma obdobími. V období před zavedením CXL bylo 63,6 % očí ve 4. stadiu keratokonu podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace, ve srovnání s 96,2 % očí v období éry CXL. Frekvence keratoplastiky z důvodu keratokonu významně klesla. Toto snížení je podle norské studie z velké části způsobeno zavedením léčby CXL.¹⁶⁴ Zesíťování rohovky je minimálně invazivní a nákladově efektivní léčba. Potřeba transplantace rohovky se tak výrazně sníží. Nicméně u pokročilých stadií ektatických onemocnění bude keratoplastika stále léčebnou metodou volby

s cílem obnovit zrakovou ostrost. V současné době by léčba CXL měla být provedena pouze u pacientů s dokumentovanou progresí keratokonu. CXL bez intervence jiného refrakčního výkonu vykazuje pouze minimální refrakční změny. Intervence dalších refrakčních zákroků, jako je implantace ICRS, poskytuje do budoucna stále více možností zlepšení zrakové ostrosti, ale bude potřeba srovnání výsledků simultánní CXL a refrakčního zákroku s pacienty bez zesíťování a pouze s ICRS, aby bylo možné rozlišovat mezi účinkem CXL a intrakorneálních kruhových segmentů. Cílem kombinovaných výkonů je korigovat nepravidelnosti tvaru a zakřivení rohovky, a tím zlepšit vidění pacienta. Zesíťování kolagenu rohovky použitím standardního protokolu „epitel-off“ původně popsaného Wollensakem a kol.²¹¹ je účinný při zastavení progresse onemocnění (52 % stabilizací, 45 % regresi). Pouze 3 % očí vykazovalo další progresi onemocnění.^{131,71} 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. V Evropě byl vyvinut riboflavin se speciálním složením, který pomáhá usnadnit transepiteliální CXL, tzv. Ricolin TE.¹⁹⁰ V současné době pořád probíhají studie k hodnocení účinnosti transepiteliálního CXL, zejména ve Spojených státech. Výsledky jsou podobné těm jako z „epitel-off“ CXL. Mezi nesporné výhody transepiteliální CXL patří nebolestivost, nižší riziko infekce rohovky a urychlení hojení epitelu. Zatímco výsledky s „epitel-off“ CXL mají tendenci být výrazně lepší u mladších pacientů než u lidí starších 35 let, tento rozdíl se nezdá být problém s transepiteliálním provedením CXL.¹⁹⁰ Transepiteliální CXL také umožňuje rychlejší obnovení zrakové ostrosti a méně nepohodlí. Transepiteliální PTK je jedním z „epitel-off“ přístupů, které ukázaly slibné vizuální a refrakční výsledky ve srovnání s manuální metodou.¹⁰² Avšak konečným cílem je zajistit stabilitu keratokonu.

Raiskup ve své práci¹⁴⁶ uvádí několik studií porovnávajících „epitel-off“ a „epitel-on“ CXL. Další studie uvádí, že použití Ricolin TE u „epi-on“ CXL vyústilo v nestabilitu keratokonu zejména u pacientů ve věku mladších než 18 let.

Studie potvrdila progresi keratokonu 12 měsíců po „epi-on“ CXL a potřebu opakování léčby pomocí „epi-off“ CXL vzhledem k významnému zhoršení všech parametrů u 50 % dětských pacientů.

Dále uvádí porovnání „epi-off“ a iontoforetické „epi-on“ CXL provedené na králičích očích při použití Ricrolinu + (0,1 % riboflavin, EDTA a tmetadol), 1 mA po dobu 5 minut. Tato studie prokázala o 45 % nižší koncentraci riboflavinu v rohovce po iontoforetické „epi-on“ CXL.

Mastropasqua a kol. ve srovnání koncentrace riboflavinu v lidských kadaverozních rohovkách po provedení jak „epi-off“, tak iontoforetické a „epi-on“ CXL uvádí, že průměrný obsah riboflavinu pod povrchem rohovky ve skupině „epi-off“ byl asi dvojnásobně vyšší, než ve skupině s iontoforézou ($50,5 \pm 5,3$ ug/g a $23,6 \pm 2,5$ ug/g v tomto pořadí), a čtyři krát vyšší, než u skupiny s „epi-on“ CXL ($11,7 \pm 3,3$ ng/g).¹⁴⁶

Dosud bylo zaznamenáno jen několik případů selhání léčby s probíhající progresí keratokonu. Je třeba očekávat, že bude určitá skupina pacientů s keratokonem, u kterých zesíťovací účinek CXL může být nedostačující k zabránění progresi onemocnění a léčení se bude muset opakovat. Je velmi důležité zaznamenávat dokumentaci o průběhu a přesnosti léčby tak, aby bylo možné vyhodnotit vliv zesíťovacích parametrů. 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 μ m. Tato fakta ale nejsou součástí standardního protokolu CXL. Proto část lékařů nepoužívá pooperační terapeutické kontaktní čočky, ale jen antibiotickou mast. Dalším bezpečnostním kritériem léčby CXL je starý oftalmologický princip, zesíťování pouze jednoho oka v jednom sezení a nikdy neléčit obě oči najednou. Ovšem i na toto tvrzení najdeme řadu různých názorů. Předoperační pachymetrie je více než povinná, aby se zabránilo ireverzibilnímu poškození endotelu, dekompenzaci rohovky, případně její perforaci.^{38,46,55,108,121,123} Časný pooperační subepiteliální pseudohaze je způsoben především lakunárním edémem a po několika měsících dojde k jeho spontánní regresi.

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 epiteliálních buněk, které sídlí v oblasti limbu. Dojde-li k poškození nebo zničení limbu, rohovka se nemůže reparovat, přerůstá jinými typy buněk (pohárkovité buňky), ztrácí transparentci, schopnost vidění se zhoršuje, což může vést až k slepotě.⁹⁷

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 a s výjimkou jednoho případu lokalizovaného poškození endotelu rohovky s nízkou pachymetrií se primárně týkají terapeutických problémů v důsledku otevřeného povrchu rohovky.

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.

V našem souboru byla průměrná doba hojení rohovkového epitelu po abrazi v dolní polovině rohovky ve skupině A $2,00 \pm 0,65$ dnů, průměrná doba reepitelizace rohovky po cirkulární abrazi epitelu ve skupině B byla $3,85 \pm 0,74$ dnů. Mezi skupinami byl nalezen statisticky významný rozdíl.

Nespornou výhodou „epitel-on“ metody je téměř nižší bolestivost po provedení zákroku. S odstraněním epitelu rohovky velmi úzce souvisí bolestivost zákroku, jeho intenzita vnímání pacientem a vznik zkalení stromatu.

V našem souboru byla intenzita vnímání bolesti hodnocena na stupnici o škále 1–5. 1. stupeň – velmi slabá, 2. stupeň – slabá, 3. stupeň – středně silná, 4. stupeň – silná, 5. stupeň – velmi silná. Intenzita vnímání bolesti ve skupině A byla průměrně na stupni $2,26 \pm 0,70$, ve skupině B na stupni $3,40 \pm 0,75$.

Mezi skupinami byl nalezen statisticky významný rozdíl.

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 podpůrné 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 biomikroskopií,¹⁷³ optickou koherentní tomografií 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, syntézi dobře strukturovaného kolagenu a nových lamelárních mezipojů.¹²³

V současné době je možné zaznamenat časový průběh korneálního zkalení (haze) po CXL pomocí různých zobrazovacích systémů, což nám dovolí

vyhodnotit jeho průběh. 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} Na našem pracovišti provádíme CXL s odstraněním epitelu rohovky. Ve skupině A byla abraze epitelu provedena pouze v dolní polovině rohovky.

V posledních letech provádíme CXL s cirkulární abrazí epitelu v 8mm zóně. 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. Ve skupině A u pacientů s rozvinutým haze byly hodnoty K_{max} vyšší (u dvou pacientů 68 a u jednoho 70 D), tloušťka rohovky v nejtenčím místě byla nižší, což dáváme do souvislosti se 3. stadiem keratokonu (podle Amslerovy-Krumeichovy klasifikace) se současným výskytem Vogtových strií.

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. I přes nekomplikovaný peroperační a pooperační průběh tří pacientů ve skupině A (K_{max} u dvou pacientů 68 D a u jednoho 70 D) došlo k progresi onemocnění ve druhém roce po provedení CXL, a proto byli indikováni k transplantaci rohovky.

Permanentní pokles vidění v důsledku korneálního zkalení jsme nezaznamenali. Po provedení CXL došlo ke zlepšení nekorigované zrakové ostrosti (UCVA). Ve skupině A nekorigovaná zraková ostrost zůstala stabilní, kdežto ve skupině B došlo k jejímu zlepšení přibližně o jeden Snellenův řádek. BCVA v brýlové korekci zůstala stabilní v obou skupinách.

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.^{149,70} Mazzota a kol.¹²¹ analyzovali dva případy stromálního zjizvení u keratokonu po CXL in vivo za pomoci konfokální mikroskopie. Stromální haze se rozvinul 2–3 měsíce po CXL s rezistencí na

topické kortikosteroidy. Autoři diskutovali pre- a pooperační mikroskopické nálezy se snahou identifikovat morfologickou příčinu jako prediktabilní faktor stromálního jizvení.

Raiskup a kol. analyzovali rozvoj permanentního zjizvení korneálního stromatu po provedení CXL.^{147,149} Jejich soubor zahrnoval 163 očí u 127 pacientů s keratokonem ve stadiu 1-3 podle Krumeichovy klasifikace. 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).

V našem souboru měli pacienti po CXL v obou skupinách podstatně nižší hodnotu K_{max} ($54,73 \pm 7,32$ D ve skupině A a ve skupině B $54,14 \pm 6,80$ D) a průměrná tloušťka rohovky byla o něco vyšší než u kolegů z Drážďan (ve skupině A na $461,71 \pm 34,99$ μm a ve skupině B $452,71 \pm 33,96$ 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 haze 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 . Autoři ošetřili 14 očí u 12 pacientů s průměrnou tloušťkou rohovky $373,92 \pm 22,92$ μm po odstranění epitelu. 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. U pacientů byla přítomna „prahová“ tloušťka rohovky, která nebyla zjištěna měřením, ale byla pokázána až peroperačně po odstranění epitelu a ošetřena isoosmolárním roztokem 0,1 % riboflavinu s 20 % dextransem.^{7,54}

Apoptóza keratocytů byla v experimentálních a klinických studiích standardního provedení CXL pozorována až do hloubky 350 μm . Při standardní metodě zesíťování kolagenu je na rohovku aplikované UVA světlo o vlnové délce 370 nm při intenzitě ozáření 3 mW/cm^2 po dobu 30 minut.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} „Stínění“ ze saturace riboflavinu v rohovce s CCT = 400 μm snižuje intenzitu ozáření na úrovni endotelu 0,18 mW/cm^2 ⁵⁴ pod prahovou cytotoxickou hodnotu 0,35 mW/cm^2 .²⁰⁹ 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 Hafezím 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 progrese 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 byla průměrná hodnota počtu endotelových buněk před CXL ve skupině A $2784 \pm 232,94/\text{mm}^2$, 12 měsíců po CXL $2717,21 \pm 220,34/\text{mm}^2$.

Ve skupině B byla průměrná hodnota počtu endotelových buněk $2817,89 \pm 220,65/\text{mm}^2$. Jeden rok po CXL byla průměrná hodnota počtu endotelových buněk $2736,36 \pm 125,01/\text{mm}^2$. Po ročním sledování po CXL došlo ve skupině A ke statisticky významnému snížení počtu endoteliálních buněk

($p < 0,001$) o 2,4 % , ve skupině B nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ($p = 0,976$). Úbytek počtu endoteliálních buněk ve skupině A vysvětlujeme přítomností očí s pokročilým keratokonem (ve III. stadiu) a tenkých rohovek ($< 400 \mu\text{m}$). U všech pacientů s tenkou rohovkou jsme po deepitelizaci rohovky během CXL použili roztok hypoosmolárního riboflavinu. Zpevnování rohovky je možné provést pouze v případech, kdy je tloušťka rohovkového stromatu $\geq 320 \mu\text{m}$ 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. Léčili 23 očí a zjistili, že nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA) byla statisticky významně lepší v průměru o 1,26 řádků u 65 % a došlo ke snížení refrakční vady o 1,14 D. V roce 2006 Caporossi a kol.²⁰ studovali předběžné výsledky CXL po třech měsících sledování u 10 očí a zjistili zlepšení BCVA v průměru o 1,66 řádků a snížení sférického ekvivalentu o 2,5 D. Také prokázali zlepšení morfologické souměrnosti s výrazným snížením chromatické aberace. Raiskup a kol.¹⁴⁸ provedli v roce 2008 v Drážďanech, Německo, rozsáhlou retrospektivní studii, ve které bylo analyzováno 241 očí se sledovací dobou šest měsíců až šest let. Nejlépe korigovaná zraková ostrost (BCVA) se výrazně zlepšila (aspoň o jeden řádek) u 53 % ze 142 očí v prvním roce, u 57 % ze 66 očí v druhém roce a 58 % z 33 očí ve třetím roce nebo zůstaly stabilní u 20 %, 24 %, a 29 % v tomto pořadí. Wittig-Silva a kol.¹³³ v roce 2008 na 66 očích sledovaných jeden rok po CXL popsali trend ke zlepšení v nejlépe

korigované zrakové ostrosti (BCVA). Ten byl pozorován ve skupině pacientů léčených CXL s průměrným zlepšením $-0,01$ LogMAR po třech měsících, $-0,07$ LogMAR po šesti měsících a $-0,12$ LogMAR 12 měsíců po CXL. Nebyla nalezena žádná statisticky významná změna v hodnotách sférického ekvivalentu. V roce 2009 Grewal a kol.⁶¹ hodnotili 102 pacientů po dobu jednoho roku. Stabilní BCVA, sférický ekvivalent, přední a zadní rohovkové zakřivení a elevační změny rohovky jeden rok po zesíťování rohovkového kolagenu ukazují, že keratokonus dále neprogredoval. Agrawal¹ v roce 2009 publikoval výsledky CXL u 68 indických očí jeden rok po CXL. Zlepšení BCVA alespoň o jeden řádek zaznamenal u 54 % očí a stabilní výsledek (beze změny) u 28 % očí. Astigmatismus se snížil v průměru o 1,20 D u 47 % očí a zůstal stejný u 42 % očí. 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. Průměrná BCVA se zlepšila o 1,34 Snellenových řádků za 12 měsíců, 1,93 řádku za 24 měsíců, 1,91 na 36 měsíců, 2,03 na 48 měsíců. V roce 2011 Hersh a kol.⁷¹ zhodnotili roční výsledky CXL u keratokonu 49 očí s keratokonem. Zjistili výrazné zlepšení UCVA a BCVA v prvním roce po CXL. 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. Hodnotili maximální simulovanou keratometrii (K_{max}), nekorigovanou zrakovou ostrost (UCVA), nejlépe korigovanou zrakovou ostrost (BCVA) v brýlové korekci, sferickou a cylindrickou subjektivní refrakci, sférický ekvivalent, minimální simulovanou keratometrii, tloušťku rohovky v nejtenčím místě, hustotu endoteliálních buněk a nitrooční tlak. Zaznamenali výsledky 46 očí léčených CXL a 48 očí z kontrolní skupiny. V kontrolní skupině se průměrná hodnota K_{max} zvýšila o $1,20 \pm 0,28$ D, $1,70 \pm 0,36$ D a $1,75 \pm 0,38$ D za 12, 24 a 36 měsíců. Ve skupině očí léčených CXL došlo k regresi v hodnotě K_{max} o $0,72 \pm 0,15$ D, $0,96 \pm 0,16$ D a $1,03 \pm 0,19$ D za 12, 24 a 36 měsíců. Průměrná hodnota nekorigované zrakové ostrosti v kontrolní skupině se změnila o $+0,10 \pm 0,04$ LogMAR za 36 měsíců. Ve skupině očí léčených CXL došlo ke zlepšení jak UCVA ($0,15 \pm 0,06$ LogMAR;) tak i BCVA ($0,09 \pm 0,03$ LogMAR)

za 36 měsíců. Došlo k výraznému snížení tloušťky rohovky měřené pomocí počítačové videokeratografie v obou skupinách. Změny hodnocených parametrů byly statisticky významné. Manifestní cylindrická refrakce se v kontrolní skupině zvýšila o $1,17 \pm 0,49$ D. 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. Při analýze 36 očí, které před 6-8lety podstoupili „epitel-off“ CXL vyhodnotili refrakční vadu, zrakovou ostrost, topografické parametry rohovky, ultrazvukovou pachymetrii a wavefront analýzu rohovky. Zjistili, že 7 let po provedení CXL se hodnoty sférického ekvivalentu zvýšily o $+0,78$ D a průměrná hodnota K_{\max} se snížila o $-0,91$ D. Nekorigovaná zraková ostrost a nejlépe korigovaná zraková ostrost se zlepšila, koma a sekundární astigmatismus se snížil. 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. Zjistili, že předoperační průměrná hodnota BCVA byla 0,40 LogMAR (u 95 % očí) a 10 let po operaci byla 0,26 LogMAR (u 95 % očí). Předoperační a pooperační BCVA byly statisticky významně odlišné a nejlépe korigovaná zraková ostrost se zlepšila o 0,14 LogMAR. U 10 očí (29,4 %) byla předoperační průměrná hodnota BCVA měřena s korekcí tvrdou kontaktní čočkou lepší než s brýlovou korekcí. Prokázali tak účinnost CXL při léčbě progresivního keratokonu, dosažení dlouhodobé stabilizace tvaru rohovky po CXL, a tím i zlepšení zrakové ostrosti pacientů.

V naší studii byla průměrná hodnota nekorigované zrakové ostrosti (UCVA) před CXL ve skupině A $0,37 \pm 0,28$ ve skupině B $0,38 \pm 0,29$ Snellenových řádků. Po jednom roce byla průměrná hodnota nekorigované zrakové ostrosti (UCVA)

ve skupině A $0,34 \pm 0,29$, ve skupině B se zlepšila na $0,42 \pm 0,28$ Snellenových řádků. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani pro jednu skupinu (skupina A $p=0,932$, skupina B $p=0,425$).

Průměrná hodnota nejlépe korigované zrakové ostrosti (BCVA) v brýlové korekci byla před CXL ve skupině A $0,86 \pm 0,24$ a ve skupině B $0,85 \pm 0,21$ Snellenových řádků. Rok po CXL byla BCVA v brýlové korekci ve skupině A $0,86 \pm 0,23$ a ve skupině B $0,84 \pm 0,2$ Snellenových řádků. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani pro jednu skupinu (skupina A $p=0,279$, skupina B $p=0,516$).

12 měsíců po CXL v obou skupinách našeho souboru nedošlo ke statisticky významné změně v průměrné hodnotě UCVA ani BCVA. 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 Toto hodnocení ovlivňuje horší zraková ostrost u dvou pacientů po CXL v důsledku progresu onemocnění ve 3. stadiu keratokonu s již velmi vysokou hodnotou maximální simulované keratometrie a velmi tenkou rohovkou s přítomností Vogtových strií. U těchto pacientů se zesíťováním rohovky nepodařilo zastavit progresi onemocnění, proto byli ve druhém roce po zesíťování rohovky indikováni ke keratoplastice.

V naší studii bylo průměrné zlepšení UCVA v obou skupinách srovnatelné podobně jako v předchozích studiích, které používaly úplné odstranění epitelu.^{28,144} Z hlediska BCVA nedošlo ke ztrátě vidění v obou skupinách.

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 vidění pozorované ve skupině s cirkulárním odstraněním epitelu může být v důsledku nižšího korneálního zkalení.

Zlepšení nekorigované zrakové ostrosti reprezentované topograficky na sagitálním zobrazení na Pentacamu jsme zaznamenali ve skupině s kruhovou abrazí epitelu. Hodnoty centrální a maximální keratometrie na sagitálním zobrazení (Sagittal Curvature Font, SCF) rohovky byly měřeny pomocí optické tomografie na bázi Scheimpflugova zobrazení na přístroji Pentacam

(Pentacam Classic, Oculus, Wetzlar, Německo). Průměrná hodnota změny centrální keratometrie na sagitálním zobrazení v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $47,74 \pm 4,46$ D a ve skupině B $48,48 \pm 6,25$ D a po ročním sledování ve skupině A $48,61 \pm 5,8$ D a ve skupině B $47,76 \pm 5,57$ D. Průměrná hodnota maximální keratometrie na sagitálním zobrazení rohovky v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $53,66 \pm 6,22$ D a ve skupině B $52,74 \pm 6$ D a po ročním sledování byla ve skupině A $53,98 \pm 6,76$ D a ve skupině B $52,3 \pm 5,59$ D. 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. Tloušťka rohovky před CXL ve skupině A byla průměrně $464,4 \pm 34,9 \mu\text{m}$, ve skupině B $470,4 \pm 32,1 \mu\text{m}$. Po jednom roce se změnila ve skupině A na $461,7 \pm 35 \mu\text{m}$ a ve skupině B $452,7 \pm 34 \mu\text{m}$. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl (skupina A $p=0,215$, skupina B $p=0,146$) ani mezi skupinami A a B (před léčbou $p=0,613$, za rok po léčbě $p=0,982$).

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 zhruba 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 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

Na většině pracovišť je používán Drážďanský protokol provedení CXL. Výsledky pachymetrického měření jsou rozhodující pro volbu osmolarity roztoku riboflavinu k saturaci rohovky. Jedná se o roztok isoosmolární nebo hypoosmolární. Měření tloušťky rohovky je velmi důležité těsně před jejím ozáření. Je-li tloušťka rohovky po abrazi rohovkového epitelu větší než 400 μm , používá se roztok riboflavinu isoosmolární, je-li menší než 400 μm , používá se roztok hypoosmolární. Aplikace vhodného roztoku riboflavinu velmi důležitá pro ochranu endotelu rohovky. Jako fotosenzibilizační látka se používá 0,1 % riboflavin. Isoosmolární riboflavin 0,1 % (roztok 10 mg riboflavin-5-fosfátu v 10 ml 20 % dextrózy a T-500 fyziologického roztoku), oční kapky se aplikují na povrch rohovky v intervalu 5 minut po dobu 30 minut. 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 předoperační 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

a to za pomoci čtyř změn: provést transepiteliální zesíťování,²⁰⁸ redukovat předoperační otok stromatu použitím hypoosmolárního riboflavinu bez dextranu nebo jen destilovanou vodou,⁶⁵ použít pachymetrii vedenou abrazi epitelu čili ponechat neporušený epitel v oblastech ztenčení rohovky,¹⁰³ nebo použití silnějšího filmu riboflavinu obsahujícího metylcelulózu.²⁰⁶

Zpevnování rohovky se může provést pouze v případech, kdy je tloušťka rohovkového stromatu $\geq 320 \mu\text{m}$ 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). Tyto přístroje měří tisíce bodů na přední a zadní ploše rohovky a poskytují informace o obou stranách stejně jako údaje o tloušťce rohovky.

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.

Současná klinická doporučení navrhují časnou léčbu progresivního keratokonu s cílem zabránit zhoršení zrakové ostrosti. V pokročilých případech keratokonu s tenkou rohovkou má CXL ještě detekovatelný příznivý vliv na korneální protruzi, což naznačuje doporučení jako léčebné metody i u pokročilého keratokonu.

V naší studii bylo dosaženo podobných výsledků. Průměrná hodnota elevační změny předního povrchu (Elevation Front, EF) v centru v 3mm zóny před léčbou byla ve skupině A $6,5 \pm 8,5$ μm a ve skupině B $15,8 \pm 13,5$ μm a po ročním sledování byla ve skupině A $7,3 \pm 6,2$ μm a ve skupině B $15,2 \pm 13,4$ μm . Průměrná maximální hodnota elevační změny předního povrchu v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $20,9 \pm 16,2$ μm a ve skupině B $11,2 \pm 8,1$ μm a po ročním sledování byla ve skupině A $11,1 \pm 11,4$ μm a ve skupině B $10,9 \pm 9,5$ μm .

Pro elevační změny předního povrchu v centrální oblasti rohovky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,688$) ani ve skupině B ($p=0,611$), mezi skupinami však byl statisticky významný rozdíl (před léčbou $p=0,0218$, za rok po CXL $p=0,0327$). Pro elevační změny předního povrchu pro maximální hodnoty nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,157$) ani ve skupině B ($p=0,92$), ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,0544$, za rok po CXL $p=0,958$).

Průměrná hodnota elevační změny zadního povrchu rohovky (Elevation Back, EB) v centru v 3mm zóny před léčbou byla ve skupině A $8,9 \pm 12,8$ μm a ve skupině B $24,7 \pm 18,1$ μm a po ročním sledování byla ve skupině A $12,4 \pm 11,9$ μm a ve skupině B $21,7 \pm 19,4$ μm . Průměrná maximální hodnota elevační změny zadního povrchu v 3mm zóně před léčbou byla ve skupině A $27,1 \pm 19,5$ μm a ve skupině B $17 \pm 23,3$ μm a po ročním sledování byla ve skupině A $17,9 \pm 18$ μm a ve skupině B $10,9 \pm 20,6$ μm . Pro elevační změny zadního povrchu v centrální oblasti rohovky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A ($p=0,296$), ve skupině B ($p=0,299$), ani mezi skupinami po roce ($p=0,178$), ale byl nalezen statisticky významný rozdíl před léčbou ($p=0,0132$). Pro elevační změny zadního povrchu pro maximální hodnoty nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ani ve skupině A ($p=0,103$), ve skupině B ($p=0,304$) ani mezi skupinami (před léčbou $p=0,058$, po léčbě $p=0,32$).

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. Průhlednost rohovky a čočky, denzita endoteliálních buněk a nitrooční tlak (IOP) zůstaly nezměněny.

V roce 2005 Braun a kol.¹⁵ popsali účinnost CXL u 27 očí s mírnou až pokročilou formou keratokonu. U všech léčených očí se podařilo progresi keratokonu stabilizovat, u 12 očí došlo k regresí onemocnění s redukcí hodnot K_{max} o 3,01 D.

V roce 2006 Caporossi a kol.²⁰ analyzovali předběžné výsledky CXL po třech měsících sledování u 10 očí a zjistili snížení K_{max} přibližně o 1,9 D. Také prokázali zlepšení morfologické souměrnosti s výrazným snížením chromatické aberace.

Raiskup a kol.¹⁴⁸ provedli v roce 2008 v Drážďanech, Německo, rozsáhlou retrospektivní studii, ve které bylo analyzováno 241 očí se sledovací dobou šest měsíců až šest let. Zjistili, že zestrmění rohovky v prvním roce výrazně pokleslo o 2,68 D, ve druhém roce o 2,21 D a ve třetím roce o 4,84 D. Předběžné výsledky australské studie provedené Wittig-Silva a kol.²⁰⁴ v roce 2008 na 66 očích po ročním sledování prokázaly zploštění K_{max} v průměru o 0,74 D za tři měsíce, 0,92 D za šest měsíců, 1,45 D za 12 měsíců po CXL.

V roce 2009 se Hoyer a kol.⁷⁶ publikovali dlouhodobé výsledky účinnosti CXL u 153 očí pacientů s progresivním keratokonem s minimálním odstupem jednoho roku až 7,5 let po CXL. Keratektazie se v prvním roce výrazně snížila o 2,29 D, ve druhém roce o 3,27 D a ve třetím roce o 4,34 D. Agrawal¹ v roce 2009 publikoval výsledky CXL u 68 indických očí jeden rok po CXL. Hodnota keratometrie na apexu rohovky (K_{max}) klesla v průměru o 2,73D u 66 % očí a zůstala stejná u 22 % očí.

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. Průměrné hodnoty K rohovky se snížily o 2 D, došlo ke zlepšení symetrie

ve více než 85 %. V roce 2011 Hersh a kol.⁷¹ zhodnotili roční výsledky CXL u keratokonu 49 očí s keratokonem. Zjistili výrazné zlepšení UCVA a BCVA a pokles hodnot keratometrií o 2 D v prvním roce po CXL.

V roce 2015 Raiskup¹⁵³ a kol. v retrospektivní studii vyhodnotili 10leté výsledky 34 očí léčených pro progresivní keratokon 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. Předoperační a pooperační BCVA byly statisticky významně lepší. Počet endoteliálních buněk zůstal nezměněn. Tyto četné studie prokazují úspěšnost léčby CXL.

V naší studii byla průměrná hodnota maximální simulované keratometrie (K_{max}) před léčbou ve skupině A $54,73 \pm 7,32$ D a ve skupině B $54,14 \pm 6,80$ D a po ročním sledování byla ve skupině A $54,07 \pm 8,10$ D a ve skupině B $54,83 \pm 4,91$ D. Pro K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl (skupina A $p=0,0851$, skupina B $p=0,825$), ani mezi skupinami A a B (před léčbou $p=0,823$, za rok po CXL $p=0,774$). V naší studii tedy zůstaly hodnoty K_{max} jeden rok po CXL stabilní a progresse keratokonu byla zastavena u všech léčených očí. Nedošlo ke statisticky významné regresi 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.

V našem souboru byla průměrná hodnota osy x K_{max} před léčbou ve skupině A 0,17 mm a ve skupině B $-0,15$ mm. Průměrná hodnota osy y K_{max} před léčbou

byla ve skupině A $-1,48$ mm a ve skupině B $-1,21$ mm. Po ročním sledování byla průměrná hodnota osy x K_{max} ve skupině A $0,11$ mm a ve skupině B $0,00$ mm. Po ročním sledování byla průměrná hodnota osy y K_{max} ve skupině A $-1,43$ mm a ve skupině B $-1,15$ mm. Pro K_{max} nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A (osa x $p=0,51148$, osa y $p=0,96348$) ani ve skupině B (osa x $p=0,687444$, osa y $p=0,277434$).

To znamená, že ve skupině A byla lokalizace apexu keratokonu před CXL průměrně $0,17$ mm temporálně a $1,48$ mm pod geometrickým středem rohovky a rok po léčbě se apex keratokonu posunul o $0,06$ mm nazálně a o $0,05$ mm nahoru. Ve skupině B byla lokalizace apexu keratokonu před CXL $0,15$ mm nazálně a $1,21$ mm pod geometrickým středem rohovky. 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. Tvzení o „push-up“ efektu keratokonu po CXL můžeme potvrdit i naší studií. Rozdíl v naší studii byl klinicky malý a statisticky nevýznamný. Pro další tvzení 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.

Průměrná hodnota osy x tloušťky rohovky v nejtenčím místě před CXL ve skupině A byla $0,22$ mm, ve skupině B $0,00$ mm. Průměrná hodnota osy y tloušťky rohovky v nejtenčím místě před CXL ve skupině A byla $-0,54$ mm, ve skupině B $-0,62$ mm. Po jednom roce se průměrná hodnota osy x změnila ve skupině A na $0,1$ mm a ve skupině B $-0,08$ mm. Průměrná hodnota osy y tloušťky rohovky v nejtenčím místě jeden rok po CXL ve skupině A byla $-0,58$ mm, ve skupině B $-0,49$ mm. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl ve skupině A (osa x $p=0,92515$, osa y $p=0,79978$) ani ve skupině B (osa x $p=0,886345$, osa y $p=0,097354$).

To znamená, že ve skupině A byla lokalizace nejtenčího místa na rohovce před CXL průměrně $0,22$ mm temporálně a $0,54$ mm pod geometrickým středem rohovky a rok po léčbě se nejtenčí místo na rohovce posunulo o $0,12$ mm nazálně a o $0,04$ mm směrem dolů. Ve skupině B lokalizace nejtenčího místa

na rohovce před CXL odpovídala geometrickému středu rohovky a 0,62 mm pod geometrickým středem rohovky. Rok po zesíťování rohovky se lokalizace nejtenčího místa na rohovce ve skupině B 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. Rozdílný směr v posunu apexu keratokonu v měření K_{max} a pachymetrie ve skupině A (1 rok po CXL při měření K_{max} o 0,05 mm nahoru, při měření pachymetrie o 0,04 mm směrem dolů) vysvětlujeme nepravidelností epitelu u pacientů s keratokonem. Pro toto tvrzení je potřeba vyhodnotit větší soubor a opakovatelnost měření na Pentacamu po CXL.

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 měřeními 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. (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)). (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)). 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. Je zřejmé, že v důsledku CXL dochází k regresí hodnot keratometrií po operaci.

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.

Většina studií^{145,205,20,131,22} uvádí statisticky významné zlepšení rohovkové topografie, zrakové ostrosti, astigmatismu a refrakce prvních 12 a 24 měsíců po „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 kol²¹³ 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 keratkonu, 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.

Výsledky mé retrospektivní studie 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 abraze 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 Pentacamu 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 centraci 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 randomizované klinické studie s dlouhou periodou sledování.

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 keratokonius: 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. 18/55. 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, Fratzl 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]. *Ophthalmologie* 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/882ed4bcea848897cbbe928e8bd1b0c3_gupta_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, Iseli 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, Miraftab 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]. *Ophthalmologe* 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. *Ophthalmologe* 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, Willems R, Westendorp RG, Bouwes Bavinck JN. Effect of smoking and sun on the aging skin. *J Invest Dermatol* 2003;120(4):548-54.
88. Khochali 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, Miháltz 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; Miháltz, 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, Scorcia V, Meduri A, Scorcia 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, R en M,  stern AE, S ethre 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 keratokonus corneas. *Ivest 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, Bohm 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):35660.

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.