

Očesna klinika,

Univerzitetni klinični center Ljubljana

ROŽENICA

Izbrana poglavja iz oftalmologije

Ješetov dan

Ljubljana, april 2025

Očesna klinika,
Univerzitetni klinični center Ljubljana

ROŽENICA

Izbrana poglavja iz oftalmologije

Ješetov dan
Ljubljana, april 2025

Učbenik je izdala:

Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

Uredniki:

Špela Štunf Pukl

Nataša Vidović Valentinčič

Barbara Cvenkel

Mojca Globočnik Petrovič

Recenzenti:

Špela Štunf Pukl

Nataša Vidović Valentinčič

Barbara Cvenkel

Mojca Globočnik Petrovič

Lektorica:

Lea Vöröš

Tehnična urednica:

Neža Tomori Kontrec

Naklada: 300 izvodov

Tisk: Fota-Cop, Ljubljana

Ljubljana, april 2025

CIP- Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

617.713(082)

JEŠETOV dan (2025 ; Ljubljana)

Roženica : izbrana poglavja iz oftalmologije : Ješetov dan : Ljubljana, april 2025 / [uredniki Špela Štunf Pukl ... et al.].- Ljubljana : Univerzitetni klinični center, Očesna klinika, 2025

ISBN 978-961-7105-45-2

COBISS.SI-ID 228656131

KAZALO

Mojca Globočnik Petrovič	
Uvod	5
Špela Štunf Pukl	
Nagovor	6
KIRURGIJA ROŽENICE DANES	
Erika Prašnikar, Tjaša Krašovec, Špela Štunf Pukl	
Novosti v očesni tkivni banki	8
Gorazd Čebulc, Andrej Gadžijev, Jože Jakovac in Danica Avsec	
Nacionalni program pridobivanja roženic v Sloveniji	30
Nina Kobal, Špela Štunf Pukl	
Minimalno invazivni kirurški pristopi in farmakološka regeneracija pri okvarah endotela roženice	43
Miha Marzidovšek, Zala Lužnik Marzidovšek	
Obravnava poškodb roženice	63
NOVOSTI NA PODROČJU OKUŽB ROŽENICE	
Nataša Vidović Valentinčič	
Obravnava okužb roženice	79
Miha Marzidovšek, Zala Lužnik Marzidovšek	
Okužbe roženice pri nosilcih kontaktnih leč	95
Petra Schollmayer, Luka Lapajne, Zala Lužnik Marzidovšek	
Težko potekajoče okužbe roženice	108

Miroslav Petrovec, Tina Uršič
Novosti pri mikrobiološki diagnostiki okužb roženice 127

Špela Štunf Pukl
Sodobne diagnostične slikovne metode roženice 140

NEINFEKCIJSKE BOLEZNI ROŽENICE, RAZISKAVE

Manca Tekavčič Pompe
Vernalni in fliktenski keratokonjunktivitis 165

Ana Gornik, Lea Kovač
Celostna obravnava bolnika s keratokonusom 183

Zala Lužnik Marzidovšek, Miha Marzidovšek, Petra Schollmayer,
 Marko Hawlina, Ana Kolenc, Tina Cirman, Elvira Maličev
**Učinkovitost mezenhimskih matičnih celic in zunajceličnih
 veziklov za obnovo roženičnega tkiva, raziskovalni projekt 211**

Petra Schollmayer, Luka Lapajne, Zala Lužnik Marzidovšek
**Rekonstrukcija očesne površine pri insuficienci limbalnih
 matičnih celic 222**

Katja Matović, Mojca Globočnik Petrovič, Špela Štunf Pukl
Nevroregeneracija roženice 238

UVOD

Mojca Globočnik Petrovič

Roženica ima ključno vlogo pri zaznavi vizualnih dražljajev, saj predstavlja optično okno očesa. Njena prozornost ni pomembna zgolj za vid, temveč omogoča tudi diagnostiko in oceno notranjih očesnih struktur. Ohranitev njene strukture in funkcionalne integritete tako ostaja eden izmed temeljnih ciljev oftalmološke stroke.

Program letošnjega 13. Ješetovega dne je zasnovan ambiciozno. Prispevki temeljijo tako na novih spoznanjih, ki so že vključena v klinično prakso, kot na tistih, ki so ob hitrem razvoju tehnologije in na podlagi dokazov tik pred uvedbo v klinično uporabo. Napredki na področju multimodalnega slikanja roženice, kirurgije ter prepoznavanja in zdravljenja infekcijskih in neinfekcijskih bolezni roženice si danes sledijo izjemno hitro, zato je nujno tako njihovo poznavanje kot tudi njihova učinkovita implementacija v klinično prakso. V vsakem zborniku izbranih poglavij oftalmologije pa ne gre le za nova, pomembna znanja. Posebno pozornost namenjamo tudi strokovnemu jeziku in izrazoslovju, ki ju s premislekom in podporo stroke želimo poenotiti ter umestiti v vsakodnevno klinično prakso. Jezik in izrazoslovje živita, se razvijata in odražata čas, v katerem delujemo.

Prvi učbenik oftalmologije v slovenskem jeziku – Ješetova *Oftalmologija*, izdan maja 1946, je strokoven in jasen, odseva jezik, terminologijo in spoznanja tistega časa: *“Prozornost roženice trpi, če se npr. parenhim napoji s tekočino. To se zgodi pri ranitvah epitela ali endotela. Solze oziroma prekatna vodka proniknejo v parenhim, ta nabrekne in se skali. Nedotaknjen endotel in epitel sta torej čuvaja njene prozornosti.”*

Ješetov učbenik je tlakoval stroko, kot tudi pot slovenski oftalmološki terminologiji. Z vsakim našim izbranim poglavjem nadaljujemo njegovo poslanstvo – uveljavljanje stroke in slovenskega strokovnega izrazoslovja, tokrat na področju roženice.

Zahvaljujem se vsem avtorjem za prispevke, še posebej spoštovanima gostoma prof. dr. Miroslavu Petrovcu in dr. Gorazdu Čebulcu.

Posebna zahvala doc. dr. Špeli Štunf Pukl, ki je letos z veliko predanostjo prevzela strokovno in organizacijsko vodenje Ješetovega dne.

Spoštovani,

srečanje in spremljevalni učbenik Ješetov dan letos prvič v celoti posvečamo roženici – edinstvenemu delu očesa, ki s svojo prosojnostjo, visoko in natančno refraktivno močjo, izjemno čvrstostjo, gosto oživilčenostjo ter sposobnostjo obnove povrhnjih slojev in regeneracije notranjih slojev predstavlja enega večjih izzivov v oftalmologiji. Roženica prav zaradi teh lastnosti zahteva hitro prepoznavo patoloških sprememb in učinkovito zdravljenje – tako kirurško kot nekirurško.

Srečanje in učbenik sta razdeljena v tri vsebinske sklope. Prvi sklop, namenjen kirurškim pristopom, odpira predavanje prim. mag. Vladimirja Pfeiferja, pionirja sodobne roženične kirurgije pri nas. Njegova vloga pri uveljavitvi penetrantnih in sodobnih lamelarnih tehnik presaditve roženice je bistveno prispevala k razvoju stroke in klinične prakse, ki jo danes nadgrajujemo. Nadaljujemo s predstavitvijo delovanja tkivne banke na Očesni kliniki in programa roženic pri Slovenija-transplantu – dveh ključnih dejavnosti za dostop do roženičnega tkiva. Zaradi pomanjkanja tkiv in želje po manj invazivnih posegih se vse bolj razvijajo in so nadalje predstavljene tudi terapevtske možnosti brez uporabe presadka, vključno s farmakološkimi pristopi. Prvi del zaokrožimo z obravnavo poškodb roženice.

Drugi sklop je namenjen okužbam. Začnemo s krovno predstavitvijo splošnih principov obravnave in zdravljenja, nato se poglobimo v specifične izzive – okužbe pri nosilcih kontaktnih leč in bolnikih s težkim potekom. Natančna diagnostika, tako moderna mikrobiološka kot slikovna, nas pri okužbah in drugih stanjih opremi z izhodišči za obravnavo bolnikov, omogoča spremljanje rezultatov zdravljenja in nenazadnje služi kot dokumentno gradivo.

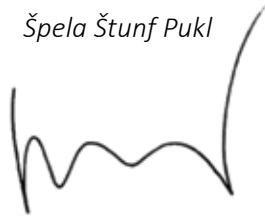
Tretji del je namenjen bolj specializiranim vsebinam. Uvodoma se posvetimo imunsko pogojenim keratitisom pri otrocih, nadaljujemo z obravnavo keratokonusa s poudarkom na celostni obravnavi ter

predstavimo pomanjkanje limbalnih zarodnih celic z razisovalnega in kliničnega vidika. Zaključimo z nevroregeneracijo, ki vliva upanje za številna zapostavljena stanja roženice in očesne površine.

Učbenik je zasnovan tako, da poglavja zajemajo osnovne koncepte, a se v nekaterih delih spustijo tudi v poglobljene strokovne vsebine in je zato namenjen tako zdravnikom drugih specializacij kot specialistom in subspecialistom ter specializantom oftalmologije, razveselili pa se ga bodo prav gotovo tudi študenti medicine in dentalne medicine pri predmetu Oftalmologija.

Vsem soavtorjem, sodelujočim predavateljem in kolegom, ki so prispevali k nastanku srečanja in učbenika, iskrena hvala. Veselimo se prihodnjih srečanj, ki bodo še naprej razvijala in nadgrajevala znanje na področju boleznih roženice in njene obravnave.

Špela Štunf Pukl

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of connected loops and curves, representing the name Špela Štunf Pukl.

NOVOSTI V OČESNI TKIVNI BANKI

Erika Prašnikar¹, Tjaša Krašovec¹, Špela Štunf Pukl^{1,2}

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

IZVLEČEK

Namen: Prikaz delovanja Očesne tkivne banke v zadnjih 10 letih; prikaz uvedenih protokolov, standardov in evidenc, vpeljanih novih tehnologij in novih postopkov, umestitve za prihodnost in primerjava z evropskim prostorom.

Metode: Pregled dokumentacije Očesne tkivne banke Očesne klinike v okviru Transplantacijske dejavnosti Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana s poudarkom na uvedenih novostih od leta 2014 do 2024.

Rezultati: Leta 2019 se je Očesna klinika vključila v Evropski register presaditev roženic in celic (*angl.* European Cornea and Cell Transplantation Registry, ECCTR) pri Evropskem združenju kirurgov sprednjega segmenta (*angl.* European Cataract and Refractive Surgeons, ESCRS). Na področju pridobivanja tkiv je bil leta 2021 izdan nov standardni operativni postopek (SOP), v katerem je dodano poglavje o fizikalnem pregledu. V sodelovanju s Slovenijo transplant je bila leta 2021 ustanovljena tudi ekipa za odvzem tkiv. Na področju ocenjevanja kakovosti roženic je bil istega leta nabavljen in v klinično prakso umeščen nov spekularni mikroskop z možnostjo ocene morfologije endotelnih celic ter meritev debeline roženice in temperature medija, kar je omogočilo večjo natančnost pri zagotavljanju kakovosti roženičnih tkiv. V zadnjih 10 letih se je vse bolj uveljavljala endotelna keratoplastika, najprej t. i. DMEK (*angl.* Descemet membrane endothelial keratoplasty), od leta 2021 pa s pridobitvijo mikrokeratoma tudi t. i. UT-DSAEK (*angl.* Ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty) za najtežje primere. Od leta 2022 se v sodelovanju z beneško očesno banko *Fondazione Banca degli Occhi del Veneto* odpira novo poglavje z uvajanjem metode organske kulture za shranjevanje roženic, ki

je narekovala ureditev novih prostorov, nakup nove opreme in aparatur ter zaposlitev dodatnega osebja s specifičnimi znanji.

Zaključki: Očesna tkivna banka na Očesni kliniki je edina tovrstna ustanova v državi. Deluje z vizijo stalnega izpopolnjevanja in sodelovanja z domačimi inštitucijami ter bankami in strokovnjaki iz tujine, da lahko skladno s standardi in smernicami zagotavlja kakovostno tkivo in postopke.

Ključne besede: tkivna banka, roženica, transplantacija, endotel, organska kultura

UVOD

Na Očesni kliniki Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) Ljubljana za potrebe zdravljenja oftalmoloških bolnikov že več kot 40 let poteka Transplantacijska dejavnost na področju roženice. Istočasno se izvaja tudi celostna dejavnost preskrbe s tkivi, ki poleg roženice obsega tudi sklero in amnijsko membrano. Dejavnost zajema odvzem tkiv, mikrobiološko testiranje darovalcev, ocenjevanje kakovosti roženic, shranjevanje, dodeljevanje in uporabo (presaditev) tkiv (1).

Na področju preskrbe in presaditve roženic aktivno sodeluje sedem specialistov, specializanti, diplomirane medicinske sestre, specializirana laboratorijska analitičarka in koordinatorica kakovosti. Osebje se redno udeležuje kongresov in spletnih strokovnih izobraževanj ter obiskuje referenčne centre.

V sodelovanju z Zavodom Republike Slovenije za presaditev organov in tkiv Slovenija transplant (dalje Slovenija transplant), kjer prepoznavajo ustrezne donorje in opravijo postopke privolitve svojcev za darovanje tkiv, se pridobivajo roženice pri multiorganskih darovalcih po vsej Sloveniji in pri darovalcih tkiv v UKC Ljubljana.

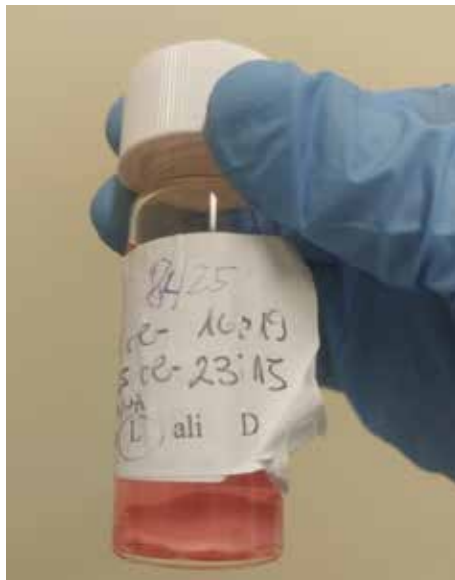
Pred odvzemom se opravi fizikalni pregled po protokolu. Med odvzemom roženice se na mestu odvzema izreže korneoskleralni obroč, ki se shrani v

vialo s shranjevalnim medijem (slika 1) do uporabe v postopku presajanja prejemniku (1–3). Trenutno se roženice shranjujejo v komercialnem mediju Eusol-c (Alchimia, Italija), ki je oblikovan za hladen tip shranjevanja (imenovan tudi hipotermično shranjevanje) roženic pri temperaturi 2–8 °C do 14 dni.

Med shranjevanjem roženic se v Očesni tkivni banki preverijo izvidi serološkega testiranja darovalcev na hepatitis, sifilis in HIV, izvidi testiranja nukleinskih kislin virusov HIV, HBC in HCV ter izvid brisa nosno-žrelnega področja darovalca za določanje prisotnosti virusa SARS-CoV-19, da se roženica lahko sprost iz t. i. karantene (1, 4, 5).

V Očesni tkivni banki se izvede ocenjevanje kakovosti roženice za presaditev z biomikroskopom in s spekularnim mikroskopom (1).

Iz karantene sproščena in kakovostno ocenjena roženica se dodeli za transplantacijo prejemniku glede na tip keratoplastike in uvrščenost na čakalnem seznamu za tkiva. Takoj po transplantaciji roženice se preostanek tkiva pošlje na mikrobiološke preiskave glede na prisotnost patogenih bakterij in gliv (3). Rezultati v primeru porasta mikroorganizmov so zaradi njihove dolge inkubacijske dobe znani po opravljeni transplantaciji, kar vpliva na pooperativno obravnavo prejemnika roženice.



Slika 1: Izrezan korneoskleralni obroč v mediju za hipotermično shranjevanje.

Delovanje Očesne tkivne banke se je od njenega začetka do danes ves čas dograjevalo v skladu z zakonodajo in priporočili Evropskega združenja očesnih tkivnih bank (*angl.* European Eye Bank Association, EEBA).

Namen tega poglavja je bil pregled dokumentacije Očesne tkivne banke na Očesni kliniki v okviru Transplantacijske dejavnosti Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana glede na uvajanje novosti od leta 2014 do 2024. Rezultati so prikazani v nadaljnjih vsebinskih poglavjih.

STANDARDNI OPERATIVNI POSTOPEK (SOP)

Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) je decembra 2009 Očesni kliniki dodelila dovoljenje za nadaljevanje opravljanja dejavnosti preskrbe s tkivi. Pri kliničnem delu se uporablja dokumentacijski sistem dejavnosti preskrbe s tkivi, ki je bil pripravljen v skladu z nacionalno

zakonodajo in smernicami EEBA (3, 4). Dokumentacija vsebuje standardne operacijske postopke (SOP), organizacijske predpise in sistem sledenja in histovigilance.

Prvi SOP je bil izdan leta 2019, drugi leta 2021, zadnja (5.) verzija drugega SOP pa je bila izdana leta 2025.

Novi SOP iz leta 2021 vsebuje novo poglavje o fizikalnem pregledu. Namen fizikalnega pregleda je ocena primernosti darovalca za odvzem tkiv in se izvaja na podlagi standardov EEBA (4). Fizikalni pregled trupla se opravi pred odvzemom tkiv v operacijski dvorani v primeru multiorganskega donorja oz. v mrtvašnici v primeru odvzema roženice mrtvemu darovalcu. Tkivo ni primerno za odvzem v primeru jasnih kliničnih znakov nalezljivih bolezni, nedavnega uživanja intravenskih drog ali pridruženih očesnih okužb ali poškodb.

EKIPA ZA ODVZEM ROŽENIC

Leta 2021 je bila v sodelovanju s Slovenija transplantom ustanovljena ekipa za odvzem roženic. Vanjo so vključeni zdravniki specialisti sprednjega segmenta, zdravniki specializanti s posebej izraženim zanimanjem za to področje, specializanti na kroženju s področja kirurgije sprednjega segmenta in diplomirane medicinske sestre.

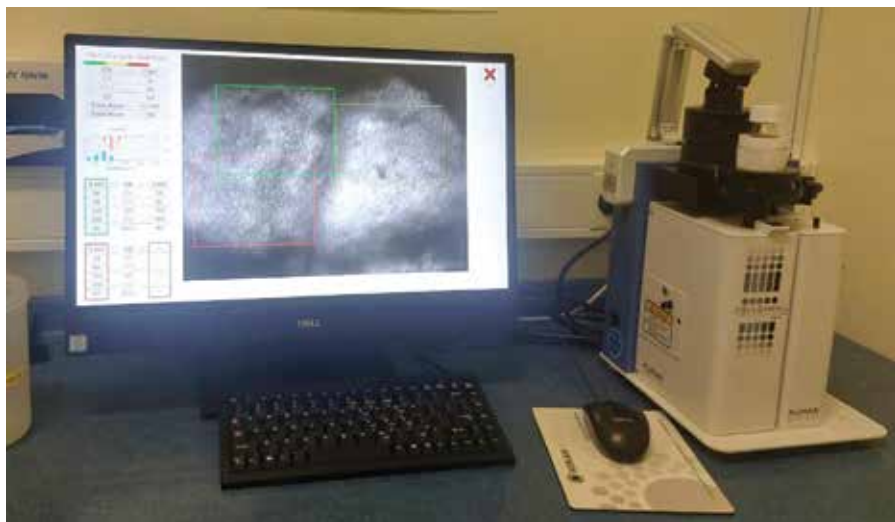
V sklopu ekipe za odvzem so zdravniki v stalni pripravljenosti za multiorganski odvzem roženic izven rednega delovnega časa. Zdravnike o možnih darovalcih obveščajo koordinatorji Slovenija transplanta, ki glede na odsotnost morebitnih kontraindikacij označijo darovalca kot primerne za odvzem roženic. Ekipa za odvzem pridobiva roženice na multiorganskih odvzemih po vsej Sloveniji in od mrtvih darovalcev v mrtvašnici UKC Ljubljana.

NADGRADNJA OCENJEVANJA ROŽENIC

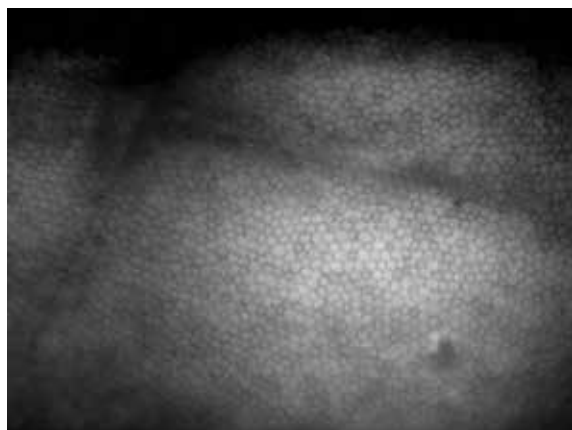
Po priporočilih EEBA se pridobljene roženice v tkivni banki s hladnim načinom hranjenja morfološko oceni z biomikroskopom in s spekularnim mikroskopom (1, 3). Ocenjevanje roženic se opravi v prvih dneh po odvzemu.

Od leta 2021 je v Očesni tkivni banki za analizo donorskih roženic v uporabi nov spekularni mikroskop CellChek CD15 (Konan Medical Inc, Japonska) (slika 2). Ocenjevanje endotelnih celic je treba izvesti pri sobni temperaturi. Spekularni mikroskop je večslikovni sistem, ki ima vgrajeni dve kameri. Ena kamera omogoča slikanje celotne roženice in s pomočjo digitalnih orodij nadaljnjo izmero premera roženice in njenih defektov ali erozij. Spekularna kamera pa omogoča vpogled na celični nivo endotela. Štetje endotelnih celic se izvaja z računalniškim programom na dva načina, in sicer z načinom »*center method*« ali z načinom »*flex center*«. Po končanem štetju se pridobijo vrednosti gostote endotelnih celic (št. celic/mm²), variabilnost v velikosti celic in delež šestkotne morfologije celic (6).

Omenjeni parametri pripomorejo k objektivni oceni funkcionalnosti endotelnih celic roženice in njeni sprostitvi bodisi za penetrantno in/ali lamelarno keratoplastiko (slika 3) bodisi samo za tektonsko keratoplastiko, če je gostota endotelnih celic <2000 celic/mm² (7).

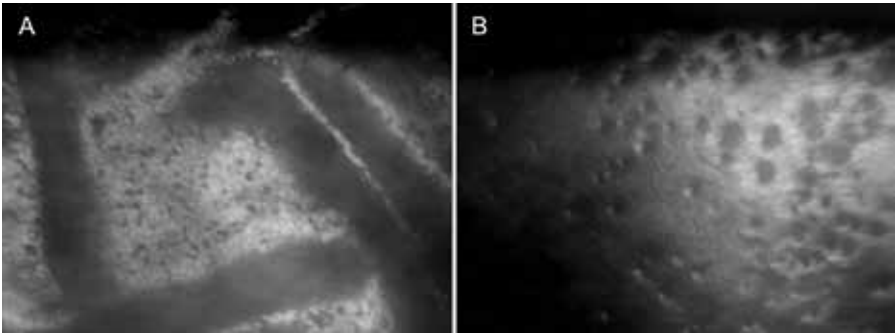


Slika 2: Spekularni mikroskop za pregled in štetje endotelnih celic roženice v Očesni tkivni banki Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana.



Slika 3: Endotelne celice darovane roženice, primerne za presaditev (spekularna mikroskopija).

Programska oprema spekularnega mikroskopa omogoča diagnosticiranje morfoloških sprememb endotela: mozaičen endotel (polimorfizem), ki se kaže kot povišana stopnja variabilnosti v celični velikosti (polimegitzem) in zmanjšanem deležu stopnje šestkotnosti (pleomorfizem). Prisotnost polimegatzizma, prisotnost področij z gubami, stresnimi linijami ali brez celic (slika 4A) ter prisotnost endotelnih distrofij ali degeneracij (slika 4B) lahko predstavljajo kontraindikacijo za elektivno keratoplastiko (3, 8).



Slika 4: Endotel neprimernih roženic za penetrantno ali endotelno keratoplastiko.
A: Endotel s prisotnimi izrazitimi gubam in manki celic. B: Endotel s izrazitimi gutami (spekularna mikroskopija).

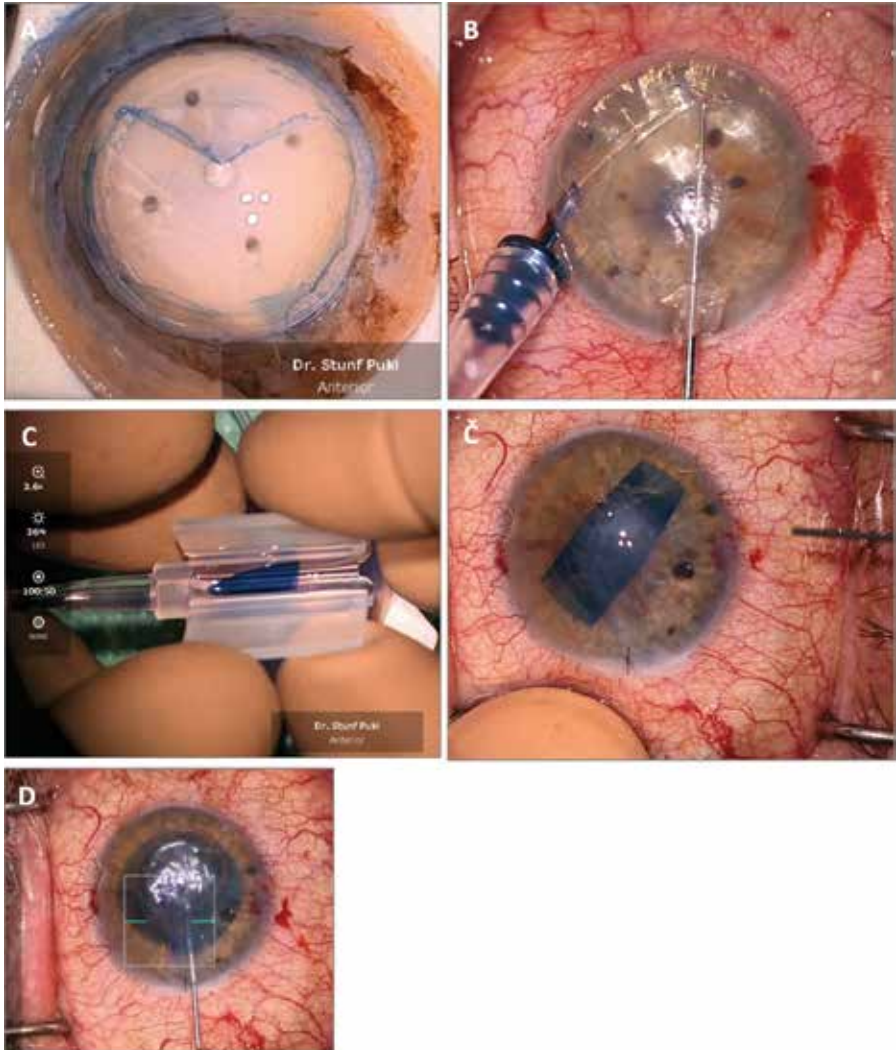
Novi spekularni mikroskop omogoča tudi meritve debeline roženice, ki je izhodišče za izbiro globine reza z mikrokeratomom pri posegih DSAEK – presaditev avtomatsko pripravljenega endotelnega presadka (*angl.* Descemet stripping automated endothelial keratoplasty, DSAEK) (glej poglavje 4) in daje vpogled v primerno črpalno funkcijo endotelnih celic (3, 9, 10).

ENDOTELNA KERATOPLASTIKA

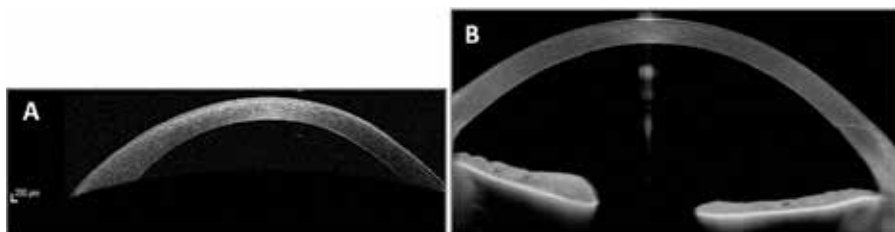
Keratoplastika se v grobem deli na tektonsko keratoplastiko, penetrantno keratoplastiko in lamelarno keratoplastiko (11, 12). Pri tektonski keratoplastiki se roženico presadi zaradi ohranitve integritete zrkla ali

odstranitve okuženih delov. Ta oblika keratoplastike je urgenten poseg (12). Penetrantna keratoplastika (PKP) je elektiven poseg, kjer se presadi celotno debelino roženice (11) in se jo izvede v primeru okvare vseh slojev roženice. Pri lamelarni keratoplastiki se presadi le delna debelina roženice. Lamelarna keratoplastika se dalje deli na anteriorno in posteriorno lamelarno oz. endotelno keratoplastiko.

Prve endotelne keratoplastike pri nas so bile t. i. DMEK – presaditev Descemetove membrane (*angl.* Descemet's membrane endothelial keratoplasty, DMEK) (slika 5 A–D) (11). Za poseg DMEK mora roženica zadostiti parametrom višje kakovosti endotela. Keratoplastika DMEK omogoča hitro rehabilitacijo znotraj enega do nekaj tednov in odličen izhod vidne ostrine. Prav tako v primerjavi s penetrantno keratoplastiko ni s šivom povzročene pooperativnega astigmatizma (slika 6 A–B).

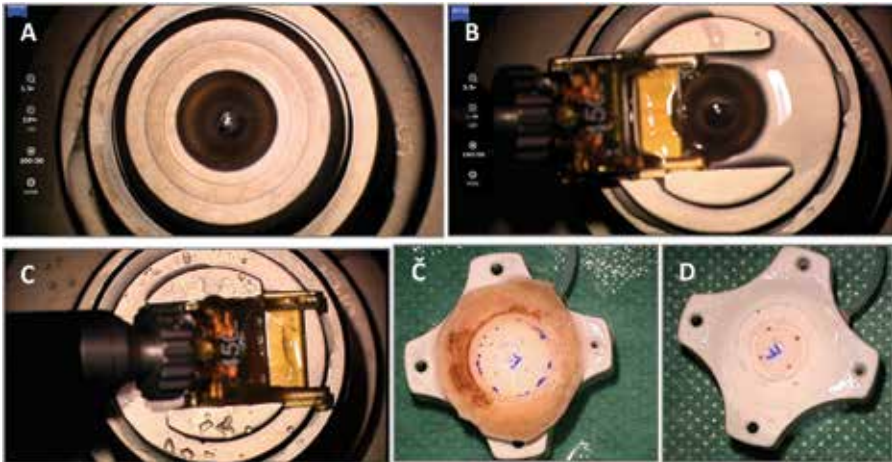


Slika 5: Priprava presadka in potek keratoplastike DMEK. A: Priprava presadka iz donorske roženice. B: Descemetoreksa. C: Priprava presadka za vstavev v oko. Č: Razvijanje presadka v prejemnikovem očesu. D: Izgled presadka ob koncu operacije (posnetki medoperativnega poteka operacije).

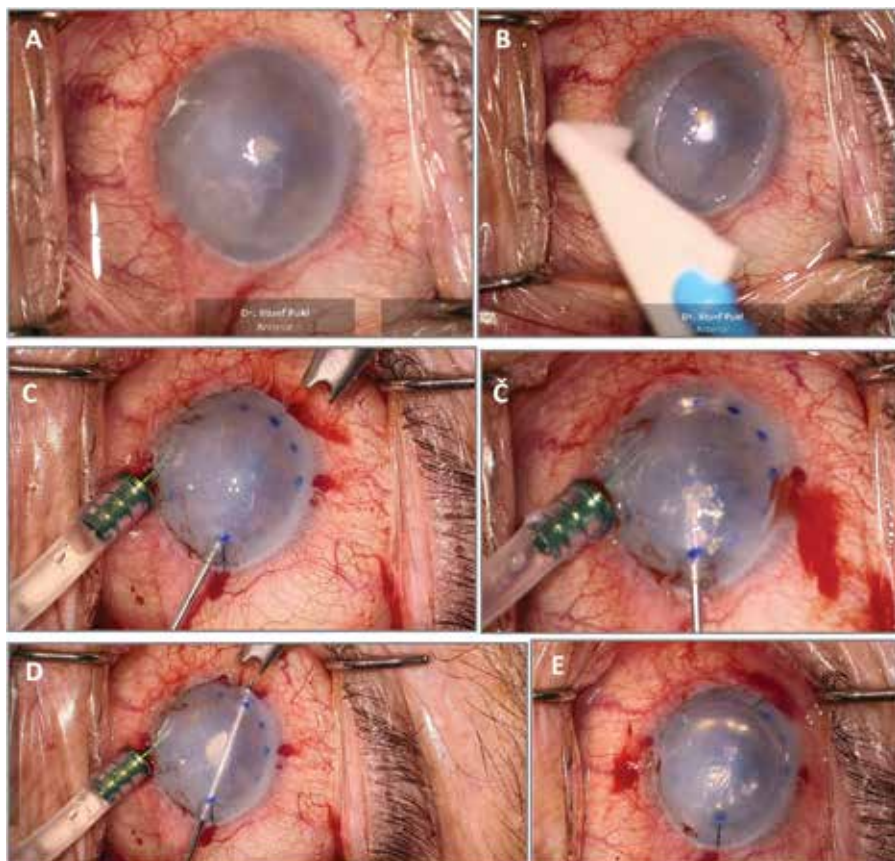


Slika 6: Stanje po DMEK z ležečim endotelnim presadkom. A: AS OCT Heidelberg Spectralis roženice. B: OCT Anterior roženice.

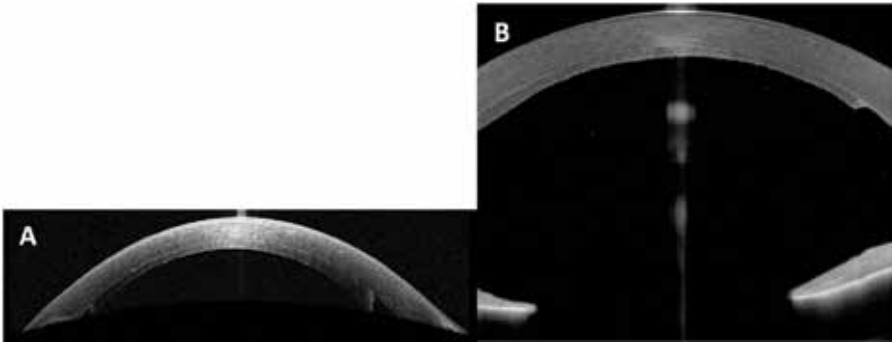
Za najtežje kirurške primere, npr. afakija, oko po vitrektomiji in oko z vstavljenim glavkotskim drenažnim implantom, kjer DMEK tehnično ni izvedljiv (13), smo kmalu za DMEK uvedli keratoplastiko DSAEK. Pri DSAEK se presadi tanek posteriorni del strome roženice, Descemetovo membrano in endotel. Za to obliko keratoplastike je bila prelomna pridobitev mikrokeratoma leta 2021, ki mogoča avtomatsko pripravo presadka (slika 7 A–D; slika 8 A–E). Pridobljen mikrokeratom se uporablja za izvajanje keratoplastike DSAEK na način UT-DSAEK (*angl.* Ultrathin Descemet stippling automated endothelial keratoplasty) (14). Tudi ta način ima v primerjavi s penetrantno keratoplastiko hitrejše okrevanje in boljši izhod vidne ostrine in cilindra (15) (slika 9 A–B). Z uvedbo DSAEK se lahko vse bolnike z izolirano okvaro endotela oskrbi z endotelno keratoplastiko.



Slika 7: Priprava presadka za keratoplastiko DSAEK. A, B: Priprava presadka iz donorske roženice z mikrokeratomom. C: Priprava presadka s pomočjo umetnega sprednjega prekata z namenom ohranitve endotela. Č: Priprava donorske roženice. D: Izgled presadka UT-DSAEK (posnetki medoperativnega poteka operacije).



Slika 8: Potek keratoplastike DSAEK. A: Oko pred DSAEK. B: Abrazija epitela. C: Descemetoreksa. Č: Vstavitev presadka. D: Temponada presadka z zrakom. E: Izgled presadka po operaciji (posnetki medoperativnega poteka operacije).



Slika 9: Stanje po DSAEK z ležičim presadkom. A: AS OCT Heidelberg Spectralis roženice. B: OCT Anterion roženice.

Pregled statistike (tabela 1) po letih kaže porast lamelarnih keratoplastik. Penetrantna keratoplastika se izvaja le še v primerih okvare vseh slojev roženice.

Tabela 1: Število keratoplastik na Očesni kliniki od leta 2020 do leta 2024.

	2020	2021	2022	2023	2024
PKP	31	25	43	24	28
DMEK	36	36	52	56	50
DSAEK	0	5	8	3	3
DALK	5	3	2	0	4
Skupaj	72	69	105	83	85

Legenda: PKP – penetrantna keratoplastika; DMEK – Descemet membrane endothelial keratoplasty; DSAEK – Descemet stripping automated endothelial keratoplasty; DALK – Deep Anterior Lamellar Keratoplasty.

REGISTER ECCTR

Leta 2019 se je ustanova uspešno priključila Evropskemu registru presaditev roženic in celic (*angl.* European Cornea and Cell Transplantation Registry, ECCTR) pri Evropskem združenju kirurgov sprednjega segmenta z namenom, da sledi kliničnim praksam na področju transplantacije roženic v Evropi in jih primerja z rezultati pri slovenskih bolnikih.

Namen projekta ECCTR je oblikovati skupno metodologijo ocenjevanja in vzpostaviti spletni evropski register, ki bo akademikom, zdravstvenim delavcem in organom nadzora pomagal pri ocenjevanju in preverjanju kakovosti, varnosti in učinkovitosti presaditve roženic (16).

Iz registra ECCTR smo za obdobje od januarja 2019 do februarja 2025 pridobili podatke o darovalcih in prejemnikih roženic, poteku transplantacij in sledenju slovenskih bolnikov in jih primerjali s podatki preostalih evropskih bolnikov. Ugotovitve kažejo, da se Očesna klinika UKC Ljubljana suvereno uvršča v evropski prostor tako glede na tkivo, kot glede na poseg (tabela 2, slika 10, slika 11). V šestih letih je opazen trend povečanega izvajanja lamelarnih keratoplastik, predvsem DMEK (52,16 %), sledi PKP (38,85 %). Srednja vrednost (mediana) najboljše korigirane vidne ostrine (BCVA) na očesu pred operacijo je bila 0,20 (po Snellenu). Po presaditvi roženice je srednja vrednost BCVA znašala 0,50, po DMEK pa 0,8. Srednja gostota endotelnih celic presadka pred transplantacijo je bila 2703 celic/mm², po dvoletnem spremljanju pa 1680 celic/mm², kar je primerljivo z evropskimi podatki. Letna incidenca odpovedi presadka na bolnika je znašala 0,05, pri čemer je prevladovala primarna odpoved presadka.

Tabela 2: Primerjava slovenskih bolnikov s podatki registra ECCTR med januarjem 2019 in februarjem 2025.

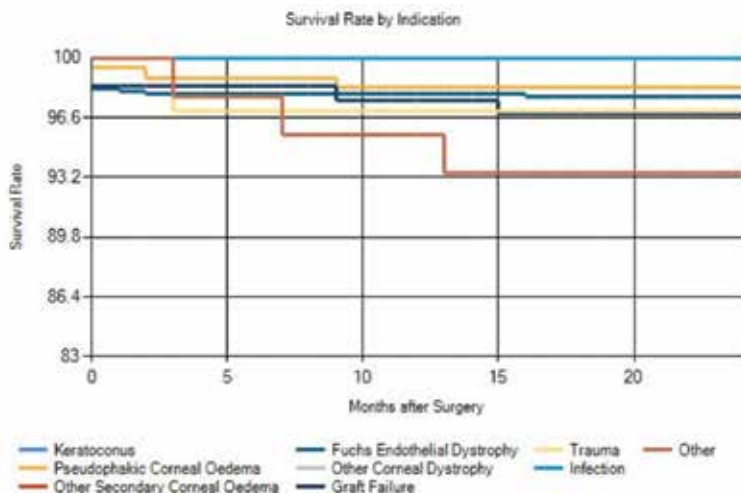
	Slovenija	ECCTR
Število keratoplastik:	278	1228
DMEK (%)	145 (52,16 %)	546 (44,46 %)
PKP (%)	108 (38,85 %)	282 (22,96 %)
DALK (%)	14 (5,04 %)	54 (4,40 %)
DSAEK (%)	9 (3,24 %)	340 (27,69 %)
Ostalo (%)	1 (0,36 %)	1 (0,08 %)
Mediana (25–75 % IKR) starosti donorjev	65 (51–75)	65 (54–72)
Mediana (25–75 % IKR) starosti prejemnikov	69 (57–77)	69 (59–77)
Mediana (25–75 % IKR) št. endotelnih celic/mm ² pri donorskih roženicah	2703 (2492–2950)	2700 (2500–2907)
Mediana (25–75 % IKR) BCVA (najboljša korigirana vidna ostrina) očesa pred operacijo	0,20 (0,05–0,50)	0,25 (0,10–0,40)
Indikacija za transplantacijo:		
Fuchsova endotelna distrofija (%)	121 (43,53 %)	587 (47,80 %)
Infekcija (%)	32 (11,51 %)	50 (4,07 %)
Bulozna keratopatija (%)	28 (10,07 %)	178 (14,50 %)
Keratokonus (%)	27 (9,71 %)	113 (9,20 %)
Poškodba (%)	18 (6,47 %)	33 (2,69 %)
Odpoved presadka (%)	21 (7,55 %)	125 (10,18 %)
Drugi vzroki sekundarnega edema roženice (%)	17 (6,12 %)	64 (5,21 %)
Druge roženične distrofije (%)	10 (3,60 %)	32 (2,61 %)
Glavni razlog za transplantacijo:		
Izboljšanje vida (%)	267 (96,04 %)	1158 (94,30 %)
Zmanjšanje bolečine (%)	2 (0,72 %)	31 (2,52 %)
Tektonska keratoplastika (%)	8 (2,88 %)	27 (2,20 %)
Drugo (%)	1 (0,36 %)	12 (0,98 %)

Predoperativni podatki in transplantacije

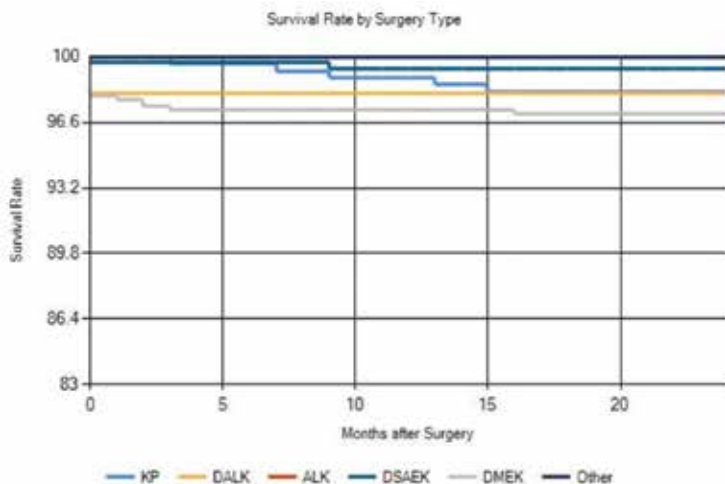
Pooperativno sledenje	Mediana (25–75 % IKR) BCVA operiranega očesa (vsi postopki keratoplastike)	0,50 (0,32–0,80)	0,40 (0,20–0,80)
	Mediana (25–75 % IKR) BCVA operiranega očesa po DMEK	0,80 (0,50-1,00)	0,63 (0,40–1,00)
	Zapleti po transplantaciji:		
	Brez (%)	89 (68,99 %)	138 (77,09 %)
	Glavkom (%)	3 (2,33 %)	3 (1,68 %)
	Katarakta (%)	8 (6,20 %)	8 (4,47 %)
	Infekcija (%)	3 (2,33 %)	3 (1,68 %)
	Astigmatizem (%)	7 (5,43 %)	7 (3,91 %)
	Dodajanje plina v sprednji prekat (%)	9 (6,98 %)	10 (5,59 %)
	Ponovni pojav bolezni (%)	1 (0,78 %)	1 (0,56 %)
	Drugo (%)	9 (6,98 %)	9 (5,03 %)
	Uspešno presajeni presadki glede na tip keratoplastike:		
	DMEK (%)	63 (49,22 %)	63 (36,84 %)
PKP (%)	59 (46,09 %)	102 (59,65 %)	
ALK (%)	0 (0,00 %)	0 (0,00 %)	
DSAEK (%)	0 (0,00 %)	0 (0,00 %)	
DALK (%)	6 (4,69 %)	6 (3,51 %)	
Mediana (25–75 % IKR) št. endotelnih celic/mm ² v presadku po transplantaciji	1680 (1397–2120)	1690 (1414–2120)	

Preživetvena analiza presadka	Neuspešni presadki: skupno št. neuspešnih presadkov/skupno št. zapisov z nadaljnjim spremljanjem presadka	15/149	28/203
	Čas spremljanja presadka, mediana (25–75 % IKR) v mesecih	24,21 (21,61–26,68)	22,47 (12,14–25,79)
	Dvoletno tveganje odpovedi presadka zaradi vseh vzrokov (%)	12 (7,45 %)	24 (10,91 %)
	Stopnja incidence dvoletne odpovedi presadka zaradi vseh vzrokov (95% interval zaupanja), (letna incidenca odpovedi presadka na bolnika)	0,05 (–0,04–0,12)	0,06 (–0,01–0,13)
	Vzroki za odpoved presadka:		
	Primarna odpoved presadka (%)	6 (50,0 %)	9 (37,50 %)
	Nepovratna zavrnitev (%)	1 (8,33 %)	1 (4,17 %)
	Zavrnitev (%)	0 (0,00 %)	2 (8,33 %)
	Infekcija (%)	1 (8,33 %)	1 (4,17 %)
	Ponovni pojav bolezni (%)	1 (8,33 %)	1 (4,17 %)
Dekompenzacija endotela (%)	1 (8,33 %)	4 (16,67 %)	
Astigmatizem (%)	0 (0,00 %)	0 (0,00 %)	
Dodajanje plina v sprednji prekat (%)	1 (8,33 %)	1 (4,17 %)	
Drugo (%)	1 (8,33 %)	5 (20,83 %)	

Legenda: DMEK – Descemet membrane endothelial keratoplasty; PKP – penetrantna keratoplastika; ALK – anteriorna lamelarna keratoplastika; DALK – Deep Anterior Lamellar Keratoplasty; DSAEK – Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty.



Slika 10: Stopnja preživetja presadka glede na indikacijo za transplantacijo pri slovenskih bolnikih (povzeto po (16)).



Slika 11: Preživetje presadka glede na tip keratoplastike pri slovenskih bolnikih (povzeto po (16)).

SHRANJEVANJE ROŽENIC Z NAČINOM ORGANSKE KULTURE

Glede na priporočila EEBA se lahko darovane roženice v očesni banki do uporabe hranijo na dva načina, in sicer s t. i. hipotermičnim načinom v temperaturnem območju 2–8 °C ali v t. i. organski kulturi pri 28–37 °C (3). V Očesni tkivni banki UKC Ljubljana se roženice trenutno shranjujejo po hipotermični metodi, vzpostavlja pa se laboratorij za organsko kulturo. V ta namen smo se povezali s strokovnjaki največje evropske očesne banke *Fondazione Banca degli Occhi del Veneto Onlus* v Benetkah.

Namen organske kulture je s simulacijo fizioloških pogojev podaljšati čas uporabnosti roženice do 1 meseca (17). V tem času je mogoče z vzorčenji gojitvenega in dehidracijskega medija že vzporedno izvajati mikrobiološko testiranje roženice in identificirati prisotnost patogenih bakterij ali gliv (18). Na takšen način bo mogoče že pred transplantacijo izločiti infektivne roženice, ki bi pri prejemnikih izzvale infekcije, ter tudi razširiti indikacije za odvzem roženic na nekatera za infekcijo bolj tvegana stanja (npr. sepsa). Topla kultivacija omogoča boljše delovanje antibiotikov in antimikotikov, ki so dodani v komercialne medije za organsko kulturo z namenom, da uničijo potencialno prisotne mikroorganizme. Poleg tega se po končani organski kulturi zopet pregleda endotelne celice in z ustreznim barvanjem tudi loči vitalne od odmrlih celic (19). Na takšen način bomo prejemnikom v prihodnje zagotovili optimalno kakovosten in varen presadek.

ZAKLJUČEK

Očesna tkivna banka na Očesni kliniki, v kateri sodelujejo specialisti sprednjega segmenta, specializanti s posebej izraženim zanimanjem za to področje, specializanti na kroženju s področja kirurgije sprednjega segmenta, diplomirane medicinske sestre in analitičarka v laboratorijski medicini s posebnimi znanji, je edina tovrstna ustanova v državi. Deluje z vizijo stalnega izpopolnjevanja, sodelovanja z domačimi inštitucijami in z bankami in strokovnjaki iz tujine, da lahko skladno s standardi in smernicami zagotavlja kakovostno tkivo in postopke.

Uvršča se med evropske banke v sklopu EEBA in je del evropskega registra ECCTR.

Z uvajanjem nove metode (organska kultura) shranjevanja roženic se pričakujejo povečanje izkoristka tkiv in nove razvojno-raziskovalne poti.

LITERATURA

1. Schollmayer P, Veselica A, Štunf Š, Pfeifer V. Preskrba s tkivi na Očesni kliniki v Ljubljani. *Zdrav Vestn*; 2012. p. 1-45-50.
2. Borderie VM. Donor selection, retrieval and preparation of donor tissue. *Donor selection. Dev Ophthalmol.* 2009;43:22-30.
3. EEBA Medical Special Interest Group: A. Gareiss-Lok (Chair), L. Dahlström, W. Vermeulen, S. Salla, J. van der Wees. *Technical Guideliness. Reviewed annually. Last revision: Nov 2019. (Dosegljivo na: www.eeba.eu).*
4. EEBA Medical Special Interest Group: P. Maier (Chair), D. Ponzin, E. Trias, J. Hjortdal, M. Hermel. *Minimum Medical Standards. Reviewed annually. Last revision: Jan 2020. (Dosegljivo na: www.eeba.eu).*
5. Aiello F, Gallo Afflitto G, Pocobelli G, Ponzin D, Nucci C. *Effect of Covid-19 on Eye Banks and Corneal Transplantations: Current Perspectives. Clin Ophthalmol.* 2022;16:4345-54.
6. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. *Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. Cornea.* 2008;27(1):1-16.
7. Benetz BA, Lass JH. *Specular Microscopy. Cornea.* 2018;37 Suppl 1:S7-S8.
8. Schroeter J, Rieck P. *Endothelial evaluation in the cornea bank. Dev Ophthalmol.* 2009;43:47-62.
9. Stuart AJ, Romano V, Virgili G, Shortt AJ. *Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK) versus Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) for corneal endothelial failure. Cochrane Database Syst Rev.* 2018;6(6):CD012097.
10. Nishisako S, Yamaguchi T, Kusano Y, Higa K, Aoki D, Sasaki C, et al. *The predictability of graft thickness for Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty using a mechanical microkeratome system. Sci Rep.* 2022;12(1):22210.
11. Tan DT, Dart JK, Holland EJ, Kinoshita S. *Corneal transplantation. Lancet.* 2012;379(9827):1749-61.
12. Yilmaz YC, Hayat SC, Bilgin GS, Altinkurt E. *Tectonic and Therapeutic Urgent Penetrating Keratoplasty Outcomes. Beyoglu Eye J.* 2024;9(2):61-8.
13. Busin M, Albé E. *Does thickness matter: ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. Curr Opin Ophthalmol.* 2014;25(4):312-8.
14. Busin M, Madi S, Santorum P, Scordia V, Beltz J. *Ultrathin descemet's stripping automated endothelial keratoplasty with the microkeratome double-pass technique: two-year outcomes. Ophthalmology.* 2013;120(6):1186-94.

15. Hurley DJ, Murtagh P, Guerin M. Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (UT-DSAEK) versus Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK)-a systematic review and meta-analysis. *Eye (Lond)*. 2023;37(14):3026–32.
16. European Cornea and Cell Transplantation Registry (EECTR). (Dosegljivo na: <https://www.es CRS.org/eurotimes/cornea-transplant-registry>).
17. Hamon L, Weinstein I, Quintin A, Safi T, Bofferding M, Daas L, Seitz B. Review for special issue: Corneal lamellar surgery: Present outcomes and future perspectives. *Taiwan J Ophthalmol*. 2024 Feb 12;14(1):3-14. doi: 10.4103/tjo.D-23-00133. PMID: 38655001; PMCID: PMC11034684.
18. Thuret G, Carricajo A, Chiquet C, Vautrin AC, Celle N, Boureille M, et al. Sensitivity and rapidity of blood culture bottles in the detection of cornea organ culture media contamination by bacteria and fungi. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(12):1422–7.
19. Pels E, Beele H, Claerhout I. Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. *Int Ophthalmol*. 2008;28(3):155–63.

NACIONALNI PROGRAM PRIDOBIVANJA ROŽENIC V SLOVENIJI

Gorazd Čebulc¹, Andrej Gadžijev¹, Jože Jakovac¹ in Danica Avsec¹

¹Zavod RS za presaditve organov in tkiv

IZVLEČEK

V prispevku predstavljamo zgoščen oris nalog Javnega zavoda Republike Slovenije za presaditve organov in tkiv Slovenija-transplant z omembo ključnih dokumentov, ki so omogočili nastanek in razvoj različnih programov od pridobivanja do presaditve organov, tkiv in celic.

Slovenija-transplant izvaja nacionalni program pridobivanja roženic že od začetka. Ključno vlogo ima centralni transplantacijski koordinator za tkiva, ki vodi postopek v vseh 11 donorskih bolnišnicah. UKC Ljubljana in UKC Maribor sta poleg donorskega centra tudi transplantacijska centra, ki izvajata samostojna programa presaditve roženic.

Celoten postopek je dokumentiran in opredeljen v standardnem operativnem postopku (SOP). Pregled podatkov o pridobljenih in presajenih roženicah kaže na uspešno zgodbo v transplantacijski medicini pri nas, za kar smo hvaležni vsem bližnjim, ki so v kritičnem trenutku privolili v darovanje roženic njihovih svojcev.

Ključne besede: pridobivanje in presaditev roženic, nacionalni program, centralni transplantacijski koordinator, Slovenija-transplant

UVOD

Z ustanovitvijo Zavoda RS za presaditve organov in tkiv (Slovenija-transplant) je Slovenija pridobila javni zavod, ki je začel sistematično izvajati naloge, ključne za pridobivanje delov človeškega telesa. Glavni namen ustanovitve zavoda je postaviti nacionalne smernice in protokole ter organizirati pridobivanje delov človeškega telesa zaradi zdravljenja na

podlagi mednarodnih strokovnih in etičnih smernic, ki zagotavljajo kakovost postopkov in posledično varnost za prejemnike. Leta 1999 je Odbor za zdravje pri Svetu Evrope sestavil strokovno skupino za pripravo smernic o zahtevanih standardih in zagotavljanju kakovosti, ki jih je treba doseči pri transplantacijah človeških organov, tkiv in celic. Smernice se praviloma posodobijo vsaki dve leti (1).

DEJAVNOST ZAVODA SLOVENIJA-TRANSPLANT

Naloge Zavoda Slovenija-transplant lahko strnemo v tri skupine: 1. razvoj in pospeševanje transplantacijske medicine, 2. razvoj in pospeševanje darovanja organov in tkiv v Sloveniji in 3. nadzor nad dejavnostjo, kamor v prvi vrsti sodi popolno preprečevanje kakršnihkoli zlorab ali komercializacije na področju darovanja organov in tkiv (2). Dodamo lahko, da je digitalizacija prispevala k razvoju pravnih podlag varovanja osebnih podatkov (3, 4, 5). Z začetkom uporabe spletne (IT) aplikacije za poročanje je prišlo do novega mejnika, saj so vsi podatki dostopni v elektronski obliki, kar omogoča enostavnejšo analizo in pripravo poročil (6). Zaradi mnogih zapletov nam je uspelo dokončati, testirati in začeti uporabljati aplikacijo IT do konca leta 2024.

Program pridobivanja roženic spada v drugo skupino nalog, ki jih izvajamo že od začetka delovanja Slovenija-transplanta. V ta namen je po mobilni telefonski povezavi preprečeno v pripravljenosti koordinator, ki zagotavlja stalne in nujne odzivnosti pri pridobivanju tkiv mrtvih darovalcev zaradi zdravljenja.

Centralni transplantacijski koordinator (CTK) je usposobljen za koordinacijo celotnega postopka od zaznave darovalca do odvzema organov in tkiv (11), kamor spadajo tudi roženice, čeprav pridobivanje tkiv in roženic načeloma koordinira dodatni koordinator, imenovan CTK za tkiva oz. CTK 2. CTK 2 trenutno uporablja standardni operativni postopek Slovenija-transplanta (slika 1). Z implementacijo aplikacije IT ob koncu leta 2024 smo prenehali uporabljati obrazce v papirnati obliki, ki so bili zakonsko opredeljeni v Pravilniku o sledljivosti človeških tkiv in celic ter izdelkov, ki prihajajo v stik s tkivi in celicami (7).

Vsebino obrazcev smo razvili in sooblikovali skladno s praksami različnih držav, smernicami Sveta Evrope (1, 8, 9) ter zakonodajo Evropske unije (15, 16, 17), usklajeno nacionalno zakonodajo (3, 7, 10, 23). Pridobljeno in v praksi preverjeno znanje smo uporabili tudi pri razvoju lastne nacionalne aplikacije IT (6) za tkiva in celice. Aplikacijo IT predvideva že zakon iz leta 2007 (10), ki zagotavlja kakovost in varnost tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje.

Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) je leta 2014 uveljavila obvezen fizikalni pregled pokojnika pred odvzemom tkiv (12). To je sprva zelo zavrlo dejavnost pridobivanja roženic (tabela 1) (13). Posledično se je čakalni seznam podaljšal.

PRIDOBIVANJE ROŽENIC DANES

V Sloveniji poteka nacionalni program pridobivanja roženic od umrlih darovalcev po dveh postopkih.

1. Koordinacija odvzema roženic pri možgansko mrtvem darovalcu se izvaja v vseh donorskih bolnišnicah, ki imajo oddelek za intenzivno medicino (24):
 - potrditev možganske smrti (lečeči oziroma dežurni zdravnik),
 - preverjanje opredelitve v registru (CTK 1),
 - pogovor s svojci za pridobitev soglasja (bolnišnični transplantacijski koordinator-BTK),
 - diagnostika, usmerjena v primernost organov in tkiv (BTK),
 - fizikalni pregled pokojnika (praviloma BTK),
 - koordinacija odvzema organov in tkiv (CTK 1 in BTK),
 - poročilo o koordinaciji (CTK 1),
 - arhiviranje dokumentacije (ekipa za odvzem, CTK 1 in BTK).

2. Koordinacija odvzema roženic pri umrlem darovalcu v prostoru za umrle se izvaja samo v UKC Ljubljana. Obsega naslednje postopke:
 - presejani test: prva ocena pokojnika na oddelku (lečeči/dežurni zdravnik),
 - preverjanje pokojnikove dokumentacije (CTK 2),

v 10 donorskih centrih opravi BTK, v UKC Ljubljana pa CTK 1. Po privolitvi se izvede diagnostika, usmerjena v primernost organov in tkiv, določi se časovnica odvzema organov in tkiv. CTK 1 koordinira postopke odvzema in prevoza ekip, organov in tkiv. CTK 1 po zaključku koordinacije napiše poročilo. CTK 1, BTK in ekipa za odzem roženic arhivirajo dokumentacijo. V drugem postopku lečeči oziroma dežurni zdravnik po cirkulatorni smrti bolnika na oddelku izvede presejalni test s šestimi vprašanji glede glavnih medicinskih kontraindikacij (v nadaljevanju: kontraindikacij). Izpolnjen obrazec pošlje v e-poštni nabiralnik CTK. Če so vsi odgovori presejalnega testa negativni, CTK 2 z lečečim oziroma dežurnim zdravnikom preveri celotno dokumentacijo umrlega zaradi izključevanja prisotnosti drugih morebitnih kontraindikacij za odzem roženic (14). Če v tem pogovoru ni ugotovljenih kontraindikacij, CTK 2 preveri opredelitev umrle osebe v registru darovalcev, nato izpelje pogovor o darovanju roženic s svojci, največkrat po telefonu. Tovrstna komunikacija od CTK 2 zahteva zelo dobro usposobljenost in komunikacijske veščine, saj sogovornika ne poznamo, prav tako po telefonu ne moremo zaznati celotnega dela neverbalne komunikacije, ki je zelo pomembna za pridobitev soglasja. Po pridobitvi soglasja sledi priprava dokumentacije za odzem roženic, vnos podatkov o mrtvem darovalcu in odvzemu roženic v nacionalni register (slika 2), vključno z izdajo dovoljenja za vstop v prostor za umrle. Podatke o procesiranju, shranjevanju, uporabi oziroma uničenju roženic vnaša v program pooblaščen oseba v prejemniškem centru. CTK 2 pripravi časovnico za odzem roženic in aktivira ekipo v pripravljenosti. Po zaključku koordinacije CTK 2 pripravi kratko poročilo o poteku in arhivira dokumentacijo.

CTK 1 in 2 sta delovni mesti z neprestano dosegljivostjo, a se koordiniranje roženic po drugem postopku CTK 2 izvaja od 6.00 do 22.00, preostali čas je na razpolago za nujne primere oz. dodatno pomoč CTK 1, ki je v pripravljenosti za koordinacijo mrtvih darovalcev organov in ponudb organov za naše prejemnike.

Ekipa za odzem roženic je v pripravljenosti v UKC Ljubljana. Izvaja odzem roženice v 10 donorskih centrih in tudi v UKC Maribor, kjer sicer odzem roženic občasno za lastne potrebe po tkivu opravi lokalna ekipa.



Slika 2: Nacionalni register – spletna aplikacija: sodobna podatkovna zbirka podatkov o tkivih in celicah

POROČANJE, APLIKACIJA IN BIOVIGILANCA

Poročanje o pridobivanju, predelavi, shranjevanju, dodeljevanju, razdeljevanju, uporabi in uničenju tkiv je osnovna naloga zagotavljanja sledljivosti in transparentnosti na nacionalni ravni. Vsaka ustanova, ki pridobi dovoljenje JAZMP, mora o svoji dejavnosti skladno z zakonodajo (10, 18, 19) sprotno in letno poročati Slovenija-transplantu (6). Slovenija-transplant do 15. januarja prejme letna poročila vseh ustanov za tkiva in celice o dejavnosti preteklega leta. Do 30. marca pripravi nacionalno letno poročilo o histovigilanci (23), ki vključuje podatke o celotni dejavnosti preskrbe s tkivi v in celicami in neželenih dogodkih in reakcijah. Poročilo pošljemo JAZMP, ki nato svoje poročilo posreduje Evropski komisiji (6). Ključno za razvoj znanja na področju tkiv in celic je bilo aktivno sodelovanje Slovenija-transplanta pri treh evropskih projektih. EUSTITE (*angl.* European Union Standards and Training in the Inspection of Tissue Establishments)

(20) je evropski projekt, pri katerem je pri razvoju skupnih smernic za vrednotenje histovigilančnih primerov znotraj evropske skupnosti sodeloval konzorcij 10 držav članic in pripravil smernice za delo pristojnih organov na področju tkiv in celic (6, 23). Projekt NOTIFY (*angl.* Exploring Vigilance Notification for Organs, Tissues and Cells) (21) je potekal istočasno kot projekt SOHO V&S (*angl.* Vigilance nad Surveillance of Human Origin) (22) s soudeležbo Svetovne zdravstvene organizacije (SZO). Vključuje spremljanje in nadzor nad snovmi človeškega izvora, tj. celicami, tkivi in organi. Leta 2010 je SZO pozvala svoje članice, da vsem članicam SZO omogočijo dostop do ustreznih informacij o darovanju, procesiranju in presaditvi človeških celic, tkiv in organov, vključno s podatki o neželenih dogodkih in reakcijah. Zato je bilo leta 2011 v Bologni organizirano mednarodno strokovno srečanje, kjer se je zbralo 113 strokovnjakov iz 36 držav. Pripravili smo dokument, ki vključuje prispevke s plenarnega zasedanja in poročila 10 delovnih skupin. Oblikovana je bila tudi spletna zbirka podatkov o biovigilančnih objavah *Notify library*, ki obsega več kot 1500 referenc (6).

PODATKI

Tabela 1: Pridobljene in presajene roženice v Sloveniji

Leto	Št. pridobljenih roženic	Št. presajenih roženic
2010	135	83
2011	98	42
2012	110	74
2013	130	85
2014	118	90
2015	111	86
2016	104	82
2017	148	100
2018	84	66
2019	115	95
2020	92	72
2021	98	74
2022	172	122
2023	137	97
2024	136	100

Vir: Slovenija-transplant

Tabela 2: Čakalni seznam v UKC Ljubljana in UKC Maribor

Leto	UKC Ljubljana	UKC Maribor
2009	134	17
2010	87	18
2011	109	18
2012	99	12
2013	109	2
2014	74	13
2015	77	13
2016	110	10
2017	100	12
2018	210	4
2019	256	NP*
2020	268	3
2021	275	7
2022	277	3
2023	275	10
2024	307	11

*NP – ni podatka; vir: Slovenija-transplant

Tabela 3: Izpolnjevanje obrazca Prva ocena in umrli v UKC Ljubljana

2024	jan	feb	mar	apr	maj	jun	jul	avg	sep	okt	nov	dec	Skupaj
Prva ocena	45	55	51	58	41	45	39	45	52	36	55	58	580
Umrli	181	204	168	141	136	145	147	141	148	135	155	147	1848
delež sporočenih	0,25	0,27	0,30	0,41	0,30	0,31	0,27	0,32	0,35	0,27	0,35	0,39	0,31

Vir: Slovenija-transplant in UKC Ljubljana

Tabela 4: Primerni možni mrtvi darovalci po Prvi oceni

2024	jan	feb	mar	apr	maj	jun	jul	avg	sep	okt	nov	dec	Skupaj
primerni	7	7	7	6	3	7	5	9	2	3	6	14	76
Prva ocena	45	55	51	58	41	45	39	45	52	36	55	58	580
delež primernih	0,16	0,13	0,14	0,10	0,07	0,16	0,13	0,20	0,04	0,08	0,11	0,24	0,13

Vir: Slovenija-transplant in UKC Ljubljana

IZZIVI ZA PRIHODNOST

Presaditev roženic je zgodba o uspehu, vendar podatki kažejo, da so različni dejavniki prispevali k znatnemu podaljšanju čakalnega seznama na Očesni kliniki UKC Ljubljana. Skladno z Istanbulsko deklaracijo (25) in evropskimi smernicami je vsaka država dolžna poskrbeti za samozadostnost (1, 8, 9). Slovenija-transplant zbira podatke o številu vseh umrlih na posameznih oddelkih v UKC Ljubljana in o številu poslanih obrazcev Prva ocena o primernosti pokojnih za darovanje tkiv. Ugotavljamo, da je delež sporočenih 'Prvih ocen' relativno nizek (0,31). Od vseh sporočenih pa je delež 'Nepripravnih' relativno visok (0,87) (tabela 4). Za pridobitev primernega tkiva je potrebna sklenjena veriga delovanja od ugotavljanja medicinskih indikacij in kontraindikacij za darovanje tkiv do primernega postopanja lečečega zdravnika na oddelku z izpolnitvijo obrazca 'Prva ocena' in obveščanjem koordinatorja Slovenija-transplanta.

Podatki o tem procesu so zbrani v tabeli 3. Od te točke naprej proces do potencialnega odvzema vodi koordinater. Prav tako je visok delež neprimernih med vsemi poročanimi mrtvimi, ki bi lahko bili darovalci roženic (tabela 4). Samozadostnost pomeni zadostitev lastnim potrebam po roženicah, kar lahko vodi v skrajšanje čakalnega seznama, saj bi teoretično lahko zadostili vsem potrebam po presaditvi roženic v Sloveniji. Glede na potencial možnih mrtvih darovalcev je spodbujanje k zagotavljanju samozadostnosti in s tem povezanimi postopki (doslednejše izpolnjevanje in sporočanje Prvih ocen, izkoristek trenutnih ter razširitev virov darovalcev na ostale donorske centre in iskanje novih rešitev) ena od prioriteta dela zavoda Slovenija-transplant.

ZAKLJUČEK

Zdravljenje s presaditvijo roženice je ena najpogostejših in tudi uspešnejših presaditev tkiv pri nas in po svetu. Takšen postopek zdravljenja pogosto predstavlja edini način, s katerim izboljšamo vid zaradi določenih obolenj oziroma poškodb. Odvzem roženic je možen po predhodni privolitvi umrle osebe, dokler je živa, oziroma ob nenasprotovanju bližnjih. Poleg pridobljenega soglasja je potrebna ocena primernosti darovalca in roženice za presaditev, ki jo po natančni predstavitvi podatkov in predoceni po piramidni shemi odločanja v Slovenija-transplantu v zaključku sprejme odgovorni za sproščanje tkiv v očesni tkivni banki UKC Ljubljana in prejemnikov zdravnik. Presaditve roženic izvajajo v dveh transplantacijskih centrih: na Očesni kliniki v UKC Ljubljana in na Oddelku za očne bolezni v UKC Maribor (13).

Zavedati se moramo, da svojci v težkih trenutkih izgube bližnjega zberejo dovolj moči, poguma in plemenitosti, da se odzovejo povabilu na pogovor o darovanju (11) roženic in tudi podajo soglasje. Brez njih in njihove pozitivne naravnosti v Sloveniji ne bi bilo opravljenih toliko transplantacij. Zdravstveni delavci in sodelavci Slovenija-transplanta se zavedamo svoje obveznosti, da smo bolnikom, ki potrebujejo zdravljenje (11) s presaditvijo roženic, dolžni ponuditi sodoben in uveljavljen način zdravljenja (11). Pozitivna povratna informacija o koristnosti takega načina zdravljenja, ki jo predstavljajo vsi bolniki s presajenimi (11) roženicami in so aktivno vključeni v okolje, nam zagotovo predstavlja motivacijo za nadaljnje delo in zadovoljstvo vsem, ki smo kakorkoli vključeni v krog, ki ga imenujemo donorsko-transplantacijska dejavnost (11).

LITERATURA

1. *Guide of Safety and Quality Assurance for the Transplantation of Organs, Tissues and Cells*. 1. izd. Strasbourg: Council of Europe, 2002.
2. Avsec D. Nacionalna transplantacijska mreža in povezava z Eurotransplantom. V: Arnot M, Kandus A, Bren A, Buturovič Ponikvar J. (ured). *Presaditev ledvic 2009*: 33. Ljubljana 2009.
3. *Zakon o varstvu osebnih podatkov*. UL RS, 2007; 94: 10389.
4. *Zakon o varstvu osebnih podatkov*. UL RS, 2022; 163: 13676.

5. Uredba (EU) 2016/679 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 27. aprila 2016 o varstvu posameznikov pri obdelavi osebnih podatkov in o prostem pretoku takih podatkov ter o razveljavitvi Direktive 95/46/ES (Splošna uredba o varstvu podatkov). UL L 119, 2016; 679:1–88.
6. Čebulc G, Jakovac J. Razvoj preskrbe s človeškimi tkivi in celicami v Sloveniji. V: *Razvoj transplantacijske medicine v Sloveniji*. Ljubljana: Zavod RS za presaditve organov in tkiv Slovenija-transplant; 2016.p. 100–106
7. Pravidnik o sledljivosti človeških tkiv in celic ter izdelkov, ki prihajajo v stik s tkivi in celicami. UL RS, 2008; 70: 9648.
8. *Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application*. 1. izd. Strassbourg: Council of Europe, 2013.
9. *Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application*. 4. izd. Strassbourg: Council of Europe, 2019.
10. Zakon o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje. UL RS, 2007; 61:8529.
11. Blumauer R. Koordinacija transplantacijske dejavnosti. V: *Kandus A, Buturovič Ponikvar J, Bren A. (ured). Transplantacija 2003: 129.*
12. Pravidnik o darovanju in pridobivanju človeških tkiv in celic. UL RS, 2008; 70: 9666. UL RS, 2014; 67: 7571. UL RS, 2014; 79: 8721.
13. *Darovanje in transplantacije organov in tkiv v Sloveniji 2023*. Ljubljana: Zavod RS za presaditve organov in tkiv. 2023.
14. Standardi Evropskega združenja za očesne banke (EEBA, revidirano februarja 2020) dosegljivo na: <http://www.europeaneyebanks.org>
15. *Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on Setting Standards of Quality and Safety for the Donation, Procurement, Testing, Processing, Preservation, Storage and Distribution of Human Tissues and Cells*. OJ L 102,07/04/2004, p 0048–0058.
16. *Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells*. OJ L38, 9.2.2006, p 40-52. OJ L 330M, 28.11.2006, p 162–174.
17. *Commission Directive 2006/86/EC of the 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells*. OJ L 294, 25.10.2006, p 32-50 (ES, CS, DA, DE, ET, EL, EN, FR, IT, LV, LT, HU, NL, PL, PT, SK, SL, FI, SV). OJ L 314M, 1.12.2007, p. 272–290(MT).
18. Pravidnik o spremembah Pravidnika o darovanju in pridobivanju človeških tkiv in celic. UL RS, 2014; 79: 8721.
19. Pravidnik o spremembah in dopolnitvah Pravidnika o sledljivosti človeških tkiv in celic ter izdelkov in materialov, ki prihajajo v stik s tkivi in celicami. UL RS, 2015; 17: 1775.
20. *Tools for Vigilance and Surveillance of Human Tissues and Cells*. Dosegljivo 13. 3. 2025 na spletni strani: <https://www.notifylibrary.org/content/european-union-standards-and-training-inspection-tissue-establishments-project-eustite>

21. *Notify*. Dosegljivo 13. 3. 2025 na spletni strani: <https://www.notifylibrary.org/content/booklet-2018>
22. *SOHO V&S*. Dosegljivo 13. 3. 2025 na spletni strani: <https://www.notifylibrary.org/content/vigilance-and-surveillance-substances-human-origin-project-sohovs>
23. *Pravilnik o histovigilanci*. UL RS, 2008; 47: 6541.
24. Gadžijev A, Avsec D. Razvoj donorskega programa v Sloveniji in ocena primernosti za darovanje. In: *Razvoj transplantacijske medicine v Sloveniji*. Ljubljana: Zavod RS za presaditve organov in tkiv Slovenija-transplant; 2016.p. 69–78.
25. *International Summit on Transplant Tourism and Organ Trafficking. The Declaration of Istanbul on Organ Trafficking and Transplant Tourism*. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Sep;3(5):1227–31

MINIMALNO INVAZIVNI KIRURŠKI PRISTOPI IN FARMAKOLOŠKA REGENERACIJA PRI OKVARAH ENDOTELA ROŽENICE

Nina Kobal¹, Špela Štunf Pukl^{1,2}

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

IZVLEČEK

Roženično slepoto, ki predstavlja večino reverzibilne slepote, kirurško zdravimo s presaditvijo donorskega roženičnega tkiva. Največji delež bolnikov, ki potrebuje presaditev, ima okvaro endotela. Pri okvari endotela je zlati standard endotelna keratoplastika. Napredek medicine in globalno pomanjkanje donorskih roženic narekujejo iskanje in razvoj novih, alternativnih načinov zdravljenja. Tako se vse bolj uporablja tehnika descemetorekse brez presadka (*angl.* Descemet stripping only, DSO), ki je uspešna pri bolnikih s Fuchsovo endotelno roženično distrofijo z ohranjeno periferno zalogo endotelnih celic. Poleg prilagojenih kirurških tehnik se uveljavlja tudi farmakološka regeneracija endotela, pri kateri so se kot najbolj učinkoviti izkazali inhibitorji Rho-kinaz, ki pospešujejo migracijo, proliferacijo in regeneracijo endotelnih celic tako *in vitro* kot *in vivo*.

Klinično so se izkazali kot učinkovito zdravljenje v pooperativnem obdobju po posegu DSO. Preučuje se tudi učinkovitost različnih rastnih faktorjev in antioksidantov na regeneracijo endotela. V poglavju so zbrana še dognanja s področja celičnega in genskega zdravljenja endotela.

Glede na trenutno znanje je kot alternativa endotelni keratoplastiki najbolj smiselno zgodnje zdravljenje s posegom DSO v kombinaciji s farmakološko regeneracijo pri izbranih bolnikih v začetnih stadijih Fuchsove endotelne roženične distrofije (*angl.* Fuchs endothelial corneal dystrophy, FECD), medtem ko endotelna keratoplastika ostaja prva izbira zdravljenja za bolnike z napredovalo boleznijo, okvaro endotela drugih etiologij ali difuznim

edemom. Pri bolnikih, kjer pride do sekundarnih brazgotin strome in/ali epitela, je še vedno indicirana penetrantna keratoplastika.

Ključne besede: presaditev roženice, desecemetoreksa brez presadka (DSO), farmakološka regeneracija endotela, Fuchsova endotelna roženična distrofija, inhibitor Rho-kinaz

UVOD

Roženica je pomembna refraktivna struktura, ki lahko opravlja svojo funkcijo le v popolnoma prozornem stanju (1, 2). Prozornost poleg neožiljenosti in geometrijsko pravilno urejene kolagenske strukture strome omogoča dehidriranost roženice, ki je posledica pravilnega delovanja roženičnega endotela na notranji površini strome. Roženični endotel sestavlja en sloj celic heksagonalne oblike, ki ohranjajo prosojnost roženice z uravnavanjem pritoka in odtoka prekatne vodke v in iz strome prek svojih pregradnih in črpalnih mehanizmov (3). Domneva se, da imajo endotelne celice roženice omejeno regenerativno sposobnost *in vivo*, saj ostanejo neaktivne v fazi celičnega cikla G1 (3). Ob izgubi endotelnih celic roženice zaradi bolezni ali poškodbe se sproži kompenzacijski mehanizem, pri katerem zdrave sosednje celice migrirajo in povečajo svojo velikost (polimegatizem) z namenom ponovne vzpostavitve enotne, sklenjene enoslojne plasti. Vse to skozi leta in s staranjem vodi v postopno manjšanje gostote endotelnih celic (*angl.* cell density, CD) in posledično slabše delovanja endotela (3). Zaradi zmanjšanja števila celic, je posledično nižje skupno število črpalk Na/K, preostale endotelne celice pa običajno tudi izražajo manj črpalk na svojih membranah, kar skupaj vodi k zmanjšanju črpalne funkcije endotela. To povzroči otekanje strome oz. vodi do roženičnega edema (4–6). Ob tem se z leti zadebeli Descemetova membrana in se spremeni njena kolagenska sestava (7). Otekanje strome vodi v zamegljen vid in splošno slabšanje vidne ostrine, v občutljivost na svetlobo in občutek tujka v očeh (8). Okvaro endotelnih celic lahko razen procesov staranja povzročijo tudi različni vzroki: distrofije (npr. Fuchsova endotelna roženična distrofija – FECD), poškodbe in pri posegih povzročene iatrogene okvare (npr.

pseudofakična bulozna keratopatija po operaciji katarakte) ter druge patologije endotela (npr. iridokornealni endotelni sindrom).

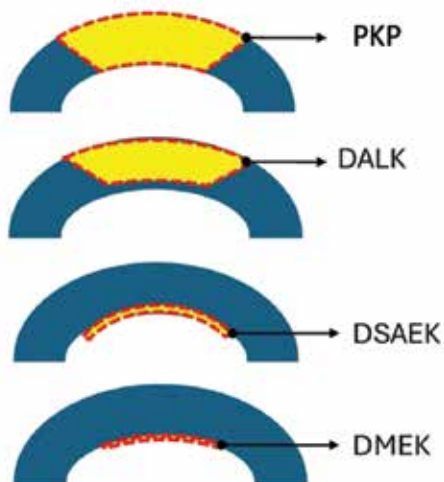
Najpogostejša med njimi sta FECD, ki je obojestranska, sporadična ali avtosomno dominantna distrofija roženice, in pseudofakična bulozna keratopatija (BK), ki je posledica pospešene izgube endotelnih celic po operaciji katarakte (9, 10). Obe bolezni sta najpogostejša indikacija za presaditev roženice v Evropi in ZDA (9).

KIRURŠKI NAČINI ZDRAVLJENJA OKVAR ROŽENIČNEGA ENDOTELE

Endotelna keratoplastika

Penetrantna keratoplastika (*angl.* penetrating keratoplasty, PKP) je bila več kot 100 let edina kirurška tehnika za zdravljenje roženičnih bolezni. V zadnjih dveh desetletjih smo bili priča razvoju naprednih in manj invazivnih tehnik lamelarnih keratoplastik (slika 1) (11, 12); pri okvarah endotela se izvaja posteriorna lamelarna keratoplastika, in sicer na dva načina:

- DSAEK (*angl.* Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty, DSAEK): Po opravljeni descemetoreksi presadimo z mikrokeratomom oblikovan tanek endotelni presadek, ki vključuje Descemetovo membrano, endotel in del strome. Prav tanek sloj strome daje oporo in obliko presadka ter omogoča rokovanje med presaditvijo pri očeh s spremenjeno anatomijo.
- DMEK (*angl.* Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty, DMEK): Izvaja se pogosteje in velja za zlati standard zdravljenja. Presadek pri tej tehniki je sestavljen iz Descemetove membrane in endotela. Tak presadek je tenek in se zaradi elastičnih lastnosti bazalne membrane krožno zaviha. V raziskavah so bolniki po DMEK dosegli boljšo korigirano vidno, imeli manj zavrnitev in hitreje okrevali v primerjavi z bolniki po PKP ali DSAEK (12, 13).



Slika 1: Različne tehnike presaditev roženice: PKP – Penetrantna keratoplastika (angl. penetrating keratoplasty, PKP); DALK – globoka anteriorna lamelarna keratoplastika (angl. deep anterior lamellar keratoplasty, DALK); DSAEK – avtomatska endotelna presaditev z odstranitvijo Descemetove membrane (angl. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty, DSAEK); DMEK – endotelna presaditev Descemetove membrane (angl. Descemet membrane endothelial keratoplasty, DMEK).

Alternativni načini kirurškega zdravljenja brez presaditve donorskega tkiva

Descemetoreksa brez presadka

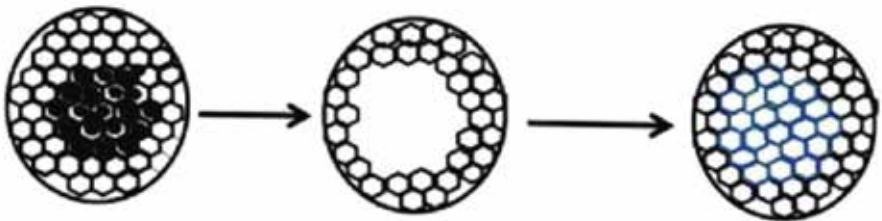
V zadnjih letih se je v svetu in pri nas uveljavila tehnika descemetorekse brez presadka (angl. Descemet Stripping Only, DSO). Prvič je idejo o podobni metodi opisal Paufique že leta 1955 (14).

Pri metodi DSO se s postopkom descemetorekse pri izbranih bolnikih s FECD, pri katerih še ni prizadet periferni del, odstrani le osrednji oboleli del endotela s pripadajočo Descemetovo membrano. S tem je še ohranjenim perifernim endotelnim celicam (periferna zaloga) omogočeno, da migrirajo proti centru in poselijo razgaljeno posteriorno površino strome v osrednjem

delu roženice (slika 2). Velja, da imajo endotelne celice *in vivo* omejeno regenerativno sposobnost, zato naj bi se celjenje endotelnih poškodb dogajalo predvsem z migracijo že obstoječih celic, in ne s proliferacijo novih. Nekatere raziskave rušijo to splošno dogmo, za razumevanje dogajanja v celoti pa so potrebni dodatni dokazi (15–17).

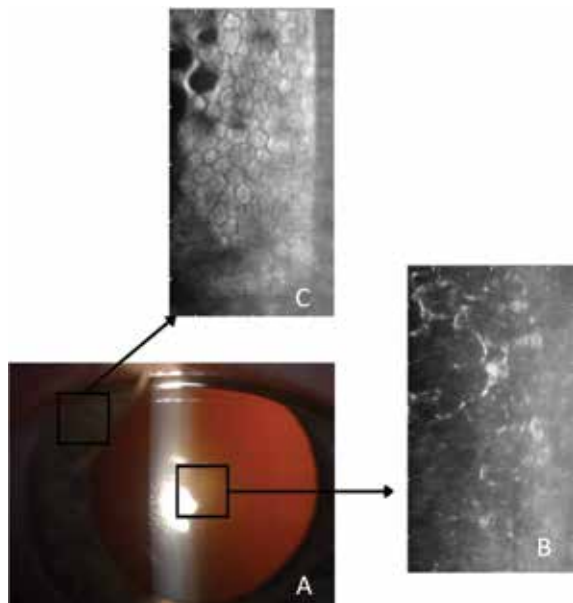
Prozornost roženice in izboljšana vidna ostrina tako dosežemo brez potrebe po presadku, zato ni potencialnih zapletov zaradi prisotnosti donorskega tkiva (možnost zavrnitvene reakcije, okužbe). Poseg DSO je v primerjavi z endotelno keratoplastiko krajši in manj invaziven. Bolniki po takem posegu ne potrebujejo dolgotrajnega preventivnega zdravljenja s kortikosteroidi.

V objavljenih delih so rezultati posega različni. Uspešnost je povezana z natančno predoperativno diagnostiko in izbiro bolnikov (18–21), primerno kirurško tehniko z manjšim premerom descemetorekse (14, 20, 21) in uporabo tehnike luščenja (*angl.* peeling) (14) ter pooperativnim zdravljenjem z inhibitorji Rho-kinaz (22–24). Na dokončno uspešnost in hitrost zaceljenja, ki traja 1–3 mesece pri hitro odzivnih bolnikih oziroma >6 mesecev pri počasi odzivnih (21), vplivajo tudi nekateri drugi dejavniki: starost bolnika, prirojeni dejavniki (npr. število rastnih faktorjev v prekatni vodki), genetika (npr. >80 ponovitev trinukleotidnih zaporedij CTG v genu za transkripcijski faktor 4 – *angl.* Transcription factor 4, TCF4) (21, 25, 26).



Slika 2: Shema posega descemetorekse brez presadka: levo – osrednji del endotela je okvarjen, sredina – okvarjen edotel je odstranjen, desno – z migracijo perifernih zdravih endotelni celic se je defekt endotela zacelil (27).

DSO je primeren poseg za bolnike z začetnimi stadiji FECD, ki imajo gute – tj. manke endotelne celice s hiperplazijo bazalne membrane in rozetnim vzorcem okolnega endotela – le v osrednjem delu roženice, periferna zaloga endotelne celice pa je ohranjena (slika 3) (20, 21, 28).

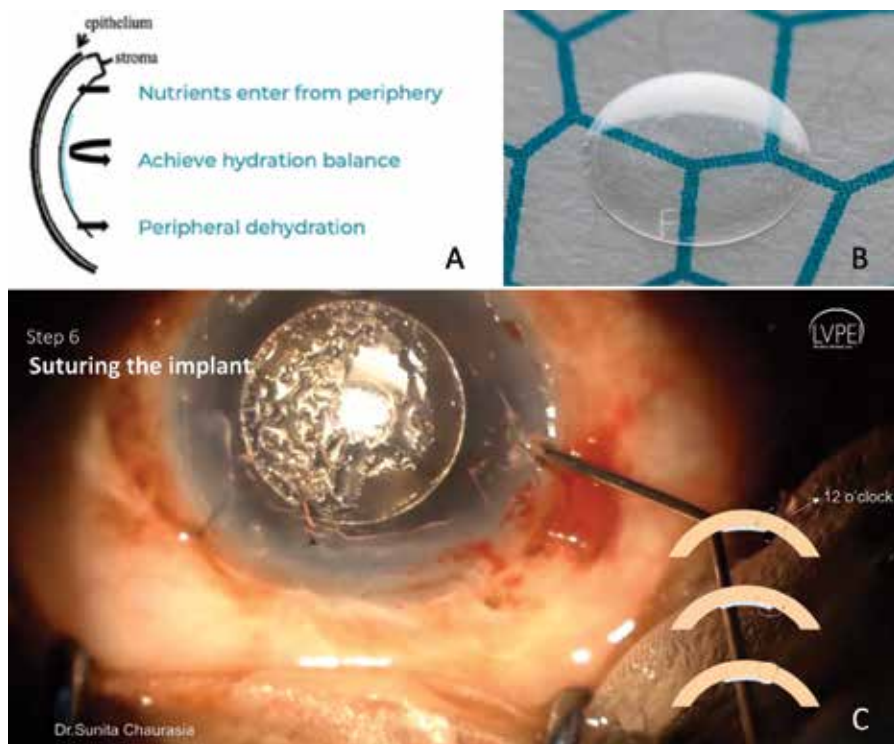


Slika 3: Bolnik z začetnim stadijem FECD, ki je primeren kandidat za DSO: A – gute so pri pregledu na biomikroskopu le v osrednjem delu roženice, B – spekularna mikroskopija osrednjega dela roženice prikaže popolnoma spremenjene endotelne celice, C – spekularna mikroskopija perifernega dela roženice prikaže endotelne celice z ohranjeno heksagonalno obliko in primerno gostoto. Vir: Arhiv Očesne klinike UKC Ljubljana.

Presaditev umetnega endotela

EndoArt® (EyeYon Medical, Izrael) je fleksibilen, biokompatibilen in sterilni silikonski sloj, prekrit z lepljivo snovjo, ki se vstavi v sprednji prekat in pritrdi na zadnjo površino roženice s pomočjo pnevmofiksacije z zrakom ali plinom, podobno kot pri tehniki endotlene keratoplastike DMEK ali DSAEK. Ta

silikonski sloj preprečuje pasiven tok elektrolitov in vode v roženico, hkrati pa omogoča izhlapevanje vode z njene površine (29) (slika 4). Trenutno poteka multicentrična raziskava, ki bo opredelila učinkovitost te tehnike, preliminarni rezultati so spodbudni (30). Vsadek EndoArt ima pridobljen certifikat CE in dokazano zmanjša oteklino in bolečino pri bolnikih z dekompenzirano roženico. Priporoča se v obdobju čakanja na presaditev in pri očeh, kjer zaradi različnih razlogov presaditev ni (več) indicirana.



Slika 4: EndoArt® (EyeYon Medical, Izrael). A – Shema principa delovanja vsadka, B – fotografija vsadka, C – fotografija med operacijo in shema postopka kirurške vstavitve (31).

Na *in vitro* modelih so dokazali, da imajo inhibitorji Rho-kinaz (npr. ripasudil, netarsudil) pomembno vlogo pri hitrejšem celjenju endotela pri določenih endotelnih okvarah, tako da pospešujejo proliferacijo in migracijo endotelnih celic roženice ter spodbujajo celjenje endotela s povečanjem adhezije med endotelnimi celicami ob sočasnem zaviranju apoptoze (35–42). *In vivo* živalski modeli so temeljili predvsem na dokazovanju pozitivnega vpliva topično apliciranih inhibitorjev Rho-kinaz na hitrejše celjenje endotela roženice (37, 41, 43–45).

Objavljeni so rezultati predkliničnih in manjših kliničnih raziskav, kjer so opazovali učinek topično apliciranega inhibitorja Rho-kinaz na regeneracijo endotela pri dekompenzaciji roženice (46, 47). Ugotavljali so zmanjšanje debeline roženice in izboljšanje vidne ostrine 1 in 3 mesece po pričetku zdravljenja v primerjavi s placebo primerjalno skupino (46, 47). Zdravljenje je bilo še posebej učinkovito pri bolnikih, ki so imeli le centralni edem roženice. V posameznih predstavitev kliničnih primerov so bili Rho-kinazni inhibitorji učinkoviti pri zdravljenju roženičnega edema po operaciji sive mreže (48, 49). Za širšo klinično uporabo so potrebne raziskave na večjih vzorcih z daljšim spremljanjem.

Rastni faktorji, antioksidanti

Za namene tkivne regeneracije so preučevali razne rastne faktorje, kot so epidermalni in fibroblastni (50, 51). Kljub *in vitro* in *in vivo* ugotovljenim pozitivnim vplivom na proliferacijo ter migracijo endotelnih celic je prisotno tveganje za vpliv na endotelijsko-mezenhimski prehod le-teh. Xia in sod. so uspeli identificirati inženirsko spremenjeno molekulo fibroblastnega rastnega faktorja 1, TTHX1114, ki je tako *in vitro* kot *in vivo* pokazal potencial za spodbudo regeneracije roženičnega endotela brez pomembnih stranskih učinkov (52). Trenutno v Združenih državah Amerike poteka klinična študija faze I/II, ki preučuje varnost in učinkovitost TTHX1114 pri zdravljenju bolezni roženičnega endotela.

Znano je, da zunajcelično okolje pri FECD povečuje tveganje za prehod endotela v mezenhimski fenotip, kar vodi v izgubo endotelnih funkcij (53). Ta prehod povzroči povečanje izražanja transformirajočega rastnega faktorja β (*angl.* transforming growth factor β , TGF- β) (54). Zaviralci TGF- β *in vitro*

zmanjšajo prehod roženičnih endotelnih celic v mezenhimski fenotip in bi lahko postali zdravljenje za FECD (55).

Druga značilnost FECD je celična smrt zaradi povečanega oksidativnega stresa (56). N-acetilcistein, odstranjevalec reaktivnih kisikovih zvrsti, je *in vitro* in na *in vivo* živalskem modelu zmanjšal celično smrt endotelnih celic (57, 58). Sposobnost zmanjšanja oksidativnega stresa in povečano preživetje človeških endotelnih celic so *in vitro* pokazali tudi antioksidant sulforafan, selektivni agonist muskarinskih acetilholinskih receptorjev oksotremorin in nesteroidno protivnetno zdravilo mefenaminska kislina (59–61).

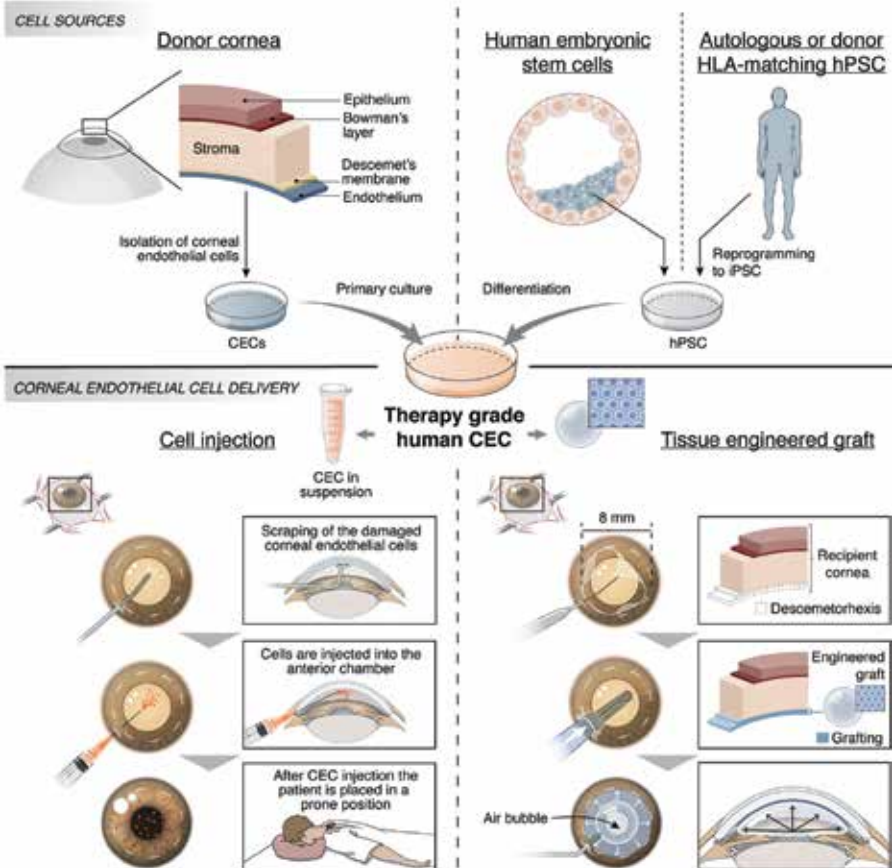
CELIČNO ZDRAVLJENJE

Tehnike celičnega zdravljenja temeljijo na sposobnosti ekspanzije izoliranih primarnih človeških roženičnih endotelnih celic *in vitro*, kadar so izpostavljene ustreznim spodbudam (62).

Celice za gojenje lahko pridobimo iz dveh virov: primarne človeške endotelne celice, izolirane iz roženic umrlih donorjev, ali diferencirane matične celice in celične linije (63) (slika 6). Pri primarnih endotelnih celicah, pridobljenih od umrlih človeških donorjev, je bilo ugotovljeno, da na uspešnost kulture pomembno vplivajo različni dejavniki donorja in shranjevanja tkiva po odzvenu (64). V primeru uporabe matičnih celic jih je mogoče pridobiti iz maščobnega tkiva, krvi popkovnice ali kostnega mozga (65, 66), medtem ko je celične linije mogoče ustvariti z inducirano neposredno diferenciacijo embrionalnih matičnih celic (67), induciranih pluripotentnih matičnih celic (68) in prekursorjev endotelnih celic (69). Izjemno pomembno je pravilno izolirati celice in jih nato gojiti v ustreznem gojišču, dopolnjenem s specifičnimi rastnimi faktorji. Pri tem se je za učinkovitega izkazal dodatek inhibitorjev Rho-kinaz, ki spodbudijo proliferacijo in preživetje endotelnih celic v kulturi (70). Poleg tega je ključnega pomena preprečevanje prehoda gojenih celic v mezenhimski fenotip.

Tako kultivirane celice je nato treba prenesti na notranjo površino roženice, kjer lahko učinkovito delujejo in obnovijo endotelno funkcijo. To lahko

dosežemo bodisi s presaditvijo endotelnih celic na nosilcih (*angl.* scaffolds) bodisi z injiciranjem celic v sprednji očesni prekat (slika 6).



Slika 6: Celično zdravljenje za endotelne roženične bolezni. Shematski prikaz možnih virov celic in načini njihovega prenosa na notranjo površino roženice (29).

Strategija, ki temelji na nosilcih, vključuje presaditev gojenega roženičnega endotela na vektorsko ploščo v postopku, podobnem presaditvi endotela

(29). Primeri nosilcev, ki so jih preučevali do sedaj, so amnijska membrana (71), Descemetova membrana, človeška sprednja lečna kapsula (72, 73) ter bioinženirski matriksi, sestavljeni iz stisnjene kolagena (74), želatine (75), svilenega fibroina in kombinacij biopolimerov (76–78).

Študije s prenosom gojenega endotela na nosilcih so bile zaenkrat izvedene le na živalskih modelih (15).

Rezultati prve klinične študije injiciranja gojenih endotelih celic v sprednji prekat na ljudeh so bili objavljeni leta 2018: 11 bolnikom s FECD ali bulozno keratopatijo so v sprednji prekat očesa injicirali suspenzijo kultiviranih celic in inhibitorja Rho-kinaz, ki so ga dodali zaradi njegovih znanih učinkov na adhezijo endotelih celic na substrat. Bolniki so bili po injiciranju tri ure v ležečem položaju, na trebuhu, da bi omogočili sedimentacijo injiciranih celic na zadnjo površino roženice (70). Kinoshita in sod. so mesece po injiciranju opazili izboljšanje gostote endotelih celic, debeline roženice in vidne ostrine. Kljub temu so avtorji izpostavili nekaj pomislekov, npr. kaj se zgodi z endotelimi celicami, ki se ne pritrdijo na endotel prejemnika, ter ali bi lahko povzročile obstrukcijo trabekularne mreže ali privedle do sinehij. Drug pomislek je bil, ali bi lahko endotelne celice prešle v sistemski krvni obtok in potencialno povzročile nastanek tumorjev (70).

Poleg dodatka inhibitorja Rho-kinaz in ležečega položaja so v nekaterih kasnejših predkliničnih študijah uporabili kontaktne leče z magnetom (79, 80).

Trenutno potekajo po svetu tri klinične študije glede aplikacije gojenih celic v sprednji prekat, dve na Japonskem in ena v Mehiki, pri kateri bodo uporabili magnetne kontaktne leče po injiciranju za boljšo adherenco injiciranih celic na endotel (81).

GENSKO ZDRAVLJENJE

Razvoj orodij za popravljanje genskih sprememb ali preprečevanje njihovih posledic bi lahko zmanjšal potrebo po presaditvi roženice pri genetsko povezanih okvarah endotela.

Genetsko okvaro poznamo pri štirih roženičnih endotelnih distrofijah:

- i. polimorfna roženična distrofija (*angl.* polymorphous corneal dystrophy, PPCD),
- ii. kongenitalna dedna endotelna distrofija (*angl.* congenital hereditary endothelial dystrophy, CHED),
- iii. X-vezana endotelna distrofija (*angl.* X-linked endothelial dystrophy, XCED) in
- iv. FECD (82).

Prve tri so redke, medtem ko je FECD pogosta sporadična avtosomno dominantna bolezen z nepopolno penetranco. Prisotna je pri 4–5 % ljudi, starejših od 40 let (83), ter predstavlja enega najpogostejših razlogov za presaditev roženice po svetu (82, 84). Razvoj genskega zdravljenja za specifično zdravljenje FECD bi zato lahko tako pomembno spremenil področje zdravljenja endotelnih roženičnih bolezni.

S FECD povezane patološke različice so v različnih genih: *SLC4A11*, *ZEB1* in *COL8A2*. Med vsemi je najpogostejša genetska sprememba širitev intronskega ponavljajočega se zaporedja CTG v genu za *TCF4* (83, 84). Pogostost širitve ponovitev CTG pri bolnikih s FECD se glede na etnično skupino giblje med 26 % in 79 %, kar uvršča širitev trinukleotidnih ponovitev CTG v genu *TCF4* med najperspektivnejše genetske tarče za razvoj genskega modulacijskega zdravljenja pri FECD (83).

Gensko zdravljenje lahko poteka na različne načine. Genska augmentacija vključuje dostavo funkcionalne kopije določenega okvarjenega gena z namenom popravila bolezni, ki je posledica izgube funkcije beljakovine. Najpogosteje uporabljeni sistemi za prenos nukleinskih kislin so tradicionalno virusni vektorji (85). Ta način zdravljenja je bil zaenkrat preučevan pri mrežničnih distrofijah, ne pa še pri roženičnih. Druga možnost je zdravljenje s protismiselnimi oligonukleotidi (*angl.* antisense oligonucleotids). Tri raziskave so preučevale uporabo protismiselnih oligonukleotidov za odpravo toksičnosti, povezane s širjenjem zaporedja CTG pri FECD (86–88). V raziskavah so *in vitro* pri celičnih linijah človeških endotelnih celic dokazali, da protismiselni oligonukleotidi zmanjšajo toksične učinke povezane z omenjeno patološko

različico. Dejanski učinki *in vivo* in zmanjšanje bolezenskega fenotipa kljub tem ugotovitvam še niso bili ocenjeni. Nerešeno ostaja tudi vprašanje primerne dostave, saj je treba terapevtsko RNA dostaviti do endotela roženice brez njegove poškodbe, endotelne celice pa jo morajo tudi internalizirati. Poleg tega bi zdravljenje s protismiselnimi oligonukleotidi zahtevalo vseživljenjsko zdravljenje, saj se oligonukleotidi RNA *in vivo* hitro razgradijo, kar pomeni, da bi bilo treba terapevtsko sredstvo dostavljati večkrat (81).

Nukleaze omogočajo modulacijo genskih regij z razrezom specifičnih tarč in spodbujajo celične odzive, ki popravljajo poškodbe DNK. Z uporabo nukleaz je mogoče genske regije odstraniti in/ali spremeniti ali vstaviti gene, če se skupaj z želeno nukleazo dostavi tudi predlogo zaporedja DNK (89). V sklopu tega je najbolj priljubljena metoda uporabe CRISPR/Cas9, ki bi se lahko potencialno uporabila za odstranitev razširitve CTG v genu *TCF4*, ki je povezana z nastankom FECD. Ker gre za razmeroma nov pristop in je trenutno zelo malo objavljenih študij na tem področju (90, 91).

Pri genskih zdravljenjih se poleg visokega vložka postavlja vprašanje primerne dostave in potencialnih neželenih učinkov v drugih celicah. Čeprav bi gensko zdravljenje lahko spremenilo genotipsko osnovo bolnika, ni nujno, da bi to pomenilo tudi ozdravljenje že obstoječih fenotipskih simptomov. Tako bi bilo treba gensko zdravljenje uvesti že pred pričetkom simptomov ali zgodaj v začetku bolezni, kar je seveda v klinični praksi težko, saj se ne izvaja preventivno genetsko testiranje bolnikov, temveč se diagnoza ponavadi postavi, ko bolnik obiše ambulantno zaradi že prisotnih težav (81).

ZAKLJUČEK

Endotelna keratoplastika je že več kot 10 let zlati standard pri obravnavi bolnikov z okvaro endotela roženice.

Napredek medicine, težnje po manj invazivnih pristopih in tudi pomanjkanje donorskih roženic so v zadnjih letih rezultirali v številnih novih poskusih zdravljenja teh bolnikov.

Za začetne stadije FECD se tudi pri nas že izvaja poseg descemetoreksa brez presadka z dobrimi rezultati pri natančno izbranih bolnikih in pravilni kirurški tehniki. V obliki klinične raziskave se za bolnike po DSO poslužujemo farmakološke regeneracije z uporabo kapljic inhibitorjev Rho-kinaz. Iz posameznih centrov v Evropi poročajo o uspešni uporabi Endoart za izbrane bolnike z napredovalo bulozno keratopatijo. Japonski znanstveniki so poročali o kliničnih uspehih celične terapije, medtem ko so različne druge razsikovalne skupine prišle do pomembnih nastavkov genskih zdravljenj. V prihodnosti torej za bolnike z okvaro endotela roženice pričakujemo razmah različnih možnosti zdravljenja ter nove rezultate klinične rabe in razširitev indikacij že uvedenih pristopov.

LITERATURA

1. Bhujel B, Oh SH, Kim CM, Yoon YJ, Kim YJ, Chung HS, et al. *Mesenchymal Stem Cells and Exosomes: A Novel Therapeutic Approach for Corneal Diseases*. *Int J Mol Sci*. 2023;24(13).
2. Kobal N, Marzidovšek M, Schollmayer P, Maličev E, Hawlina M, Marzidovšek ZL. *Molecular and Cellular Mechanisms of the Therapeutic Effect of Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles in Corneal Regeneration*. *Int J Mol Sci*. 2024;25(20).
3. Stuart AJ, Romano V, Virgili G, Shortt AJ. *Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK) versus Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) for corneal endothelial failure*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;6(6):Cd012097.
4. Vedana G, Villarreal G, Jr., Jun AS. *Fuchs endothelial corneal dystrophy: current perspectives*. *Clin Ophthalmol*. 2016;10:321–30.
5. Nanda GG, Alone DP. *REVIEW: Current understanding of the pathogenesis of Fuchs' endothelial corneal dystrophy*. *Mol Vis*. 2019;25:295–310.
6. Geroski DH, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF. *Pump function of the human corneal endothelium. Effects of age and cornea guttata*. *Ophthalmology*. 1985;92(6):759–63.
7. Ali M, Raghunathan V, Li JY, Murphy CJ, Thomasy SM. *Biomechanical relationships between the corneal endothelium and Descemet's membrane*. *Exp Eye Res*. 2016;152:57-70.
8. Klintworth GK. *Corneal dystrophies*. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;4:7.
9. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. *Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking*. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(2):167–73.
10. Parekh M, Baruzzo M, Favaro E, Borroni D, Ferrari S, Ponzin D, et al. *Standardizing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Graft Preparation Method in the Eye Bank-Experience of 527 Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Tissues*. *Cornea*. 2017;36(12):1458–66.
11. Bahar I, Kaiserman I, McAllum P, Slomovic A, Rootman D. *Comparison of posterior lamellar keratoplasty techniques to penetrating keratoplasty*. *Ophthalmology*. 2008;115(9):1525–33.

12. Anshu A, Price MO, Tan DT, Price FW, Jr. Endothelial keratoplasty: a revolution in evolution. *Surv Ophthalmol.* 2012;57(3):236–52.
13. Parekh M, Borroni D, Ruzza A, Levis HJ, Ferrari S, Ponzin D, et al. A comparative study on different Descemet membrane endothelial keratoplasty graft preparation techniques. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(6):e718–e26.
14. Garcerant D, Hirschall N, Toalster N, Zhu M, Wen L, Moloney G. Descemet's stripping without endothelial keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol.* 2019;30(4):275–85.
15. Okumura N, Kinoshita S, Koizumi N. Application of Rho Kinase Inhibitors for the Treatment of Corneal Endothelial Diseases. *J Ophthalmol.* 2017;2017:2646904.
16. Koizumi N, Okumura N, Ueno M, Nakagawa H, Hamuro J, Kinoshita S. Rho-associated kinase inhibitor eye drop treatment as a possible medical treatment for Fuchs corneal dystrophy. *Cornea.* 2013;32(8):1167–70.
17. Hirata-Tominaga K, Nakamura T, Okumura N, Kawasaki S, Kay EP, Barrandon Y, et al. Corneal endothelial cell fate is maintained by LGR5 through the regulation of hedgehog and Wnt pathway. *Stem Cells.* 2013;31(7):1396–407.
18. Koenig SB. Planned Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty in Eyes With Fuchs Corneal Endothelial Dystrophy. *Cornea.* 2015;34(9):1149–51.
19. Iovieno A, Neri A, Soldani AM, Adani C, Fontana L. Descemetorhexis Without Graft Placement for the Treatment of Fuchs Endothelial Dystrophy: Preliminary Results and Review of the Literature. *Cornea.* 2017;36(6):637–41.
20. Iovieno A, Moramarco A, Fontana L. Descemet stripping only in Fuchs' endothelial dystrophy without use of topical Rho-kinase inhibitors: 5-year follow-up. *Can J Ophthalmol.* 2022;57(6):402–7.
21. Borkar DS, Veldman P, Colby KA. Treatment of Fuchs Endothelial Dystrophy by Descemet Stripping Without Endothelial Keratoplasty. *Cornea.* 2016;35(10):1267–73.
22. Moloney G, Garcerant Congote D, Hirschall N, Arsiwalla T, Luiza Mylla Boso A, Toalster N, et al. Descemet Stripping Only Supplemented With Topical Ripasudil for Fuchs Endothelial Dystrophy 12-Month Outcomes of the Sydney Eye Hospital Study. *Cornea.* 2021;40(3):320–6.
23. Macsai MS, Shiloach M. Use of Topical Rho Kinase Inhibitors in the Treatment of Fuchs Dystrophy After Descemet Stripping Only. *Cornea.* 2019;38(5):529–34.
24. Davies E, Jurkunas U, Pineda R, 2nd. Pilot Study of Corneal Clearance With the Use of a Rho-Kinase Inhibitor After Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea.* 2021;40(7):899–902.
25. Davies E, Jurkunas U, Pineda R, 2nd. Predictive Factors for Corneal Clearance After Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty. *Cornea.* 2018;37(2):137–40.
26. Spiteri N, Hirschall N, van Bysterveldt K, Hou AL, Moloney G, Ball M, et al. Impact of TCF4 Repeat Number on Resolution of Corneal Edema after Descemet's Stripping Only in Fuchs Dystrophy: A Pilot Study. *Vision (Basel).* 2021;5(4).
27. Singh NK, Sahu SK. Rho-kinase inhibitors: Role in corneal endothelial disorders. *Semin Ophthalmol.* 2023;38(1):9–14.
28. Huang MJ, Kane S, Dhaliwal DK. Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty Versus DMEK for Treatment of Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea.* 2018;37(12):1479–83.

29. Rocha-de-Lossada C, Rachwani-Anil R, Borroni D, Sánchez-González JM, Esteves-Marques R, Soler-Ferrández FL, et al. New Horizons in the Treatment of Corneal Endothelial Dysfunction. *J Ophthalmol.* 2021;2021:6644114.
30. Daphna O, Marcovich, A.L. EndoArt: multi center ongoing study of innovative artificial implant designed to treat corneal edema. 38th Congress of the European Society of Cataract and Refractive Surgeons2020.
31. Medical E. EndoArt: The first synthetic endothelial layer [
32. Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science.* 1998;279(5350):509–14.
33. Moshirfar M, Parker L, Birdsong OC, Ronquillo YC, Hofstedt D, Shah TJ, et al. Use of Rho kinase Inhibitors in Ophthalmology: A Review of the Literature. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2018;7(3):101–11.
34. Tönges L, Koch JC, Bähr M, Lingor P. ROCKing Regeneration: Rho Kinase Inhibition as Molecular Target for Neurorestoration. *Front Mol Neurosci.* 2011;4:39.
35. Syed ZA, Rapuano CJ. Rho kinase (ROCK) inhibitors in the management of corneal endothelial disease. *Curr Opin Ophthalmol.* 2021;32(3):268–74.
36. Futterknecht S, Chatzimichail E, Gugleta K, Panos GD, Gatziofufas Z. The Role of Rho Kinase Inhibitors in Corneal Diseases. *Drug Des Devel Ther.* 2024;18:97–108.
37. Okumura N, Okazaki Y, Inoue R, Kakutani K, Nakano S, Kinoshita S, et al. Effect of the Rho-Associated Kinase Inhibitor Eye Drop (Ripasudil) on Corneal Endothelial Wound Healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(3):1284–92.
38. Pipparelli A, Arsenijevic Y, Thuret G, Gain P, Nicolas M, Majo F. ROCK inhibitor enhances adhesion and wound healing of human corneal endothelial cells. *PLoS One.* 2013;8(4):e62095.
39. Peh GS, Adnan K, George BL, Ang HP, Seah XY, Tan DT, et al. The effects of Rho-associated kinase inhibitor Y-27632 on primary human corneal endothelial cells propagated using a dual media approach. *Sci Rep.* 2015;5:9167.
40. Okumura N, Koizumi N, Ueno M, Sakamoto Y, Takahashi H, Hamuro J, et al. The new therapeutic concept of using a rho kinase inhibitor for the treatment of corneal endothelial dysfunction. *Cornea.* 2011;30 Suppl 1:S54–9.
41. Okumura N, Koizumi N, Ueno M, Sakamoto Y, Takahashi H, Hirata K, et al. Enhancement of corneal endothelium wound healing by Rho-associated kinase (ROCK) inhibitor eye drops. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(7):1006–9.
42. Schlötzer-Schrehardt U, Zenkel M, Strunz M, Gießl A, Schondorf H, da Silva H, et al. Potential Functional Restoration of Corneal Endothelial Cells in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy by ROCK Inhibitor (Ripasudil). *Am J Ophthalmol.* 2021;224:185–99.
43. Meekins LC, Rosado-Adames N, Maddala R, Zhao JJ, Rao PV, Afshari NA. Corneal Endothelial Cell Migration and Proliferation Enhanced by Rho Kinase (ROCK) Inhibitors in In Vitro and In Vivo Models. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(15):6731–8.
44. Okumura N, Nakano S, Kay EP, Numata R, Ota A, Sowa Y, et al. Involvement of cyclin D and p27 in cell proliferation mediated by ROCK inhibitors Y-27632 and Y-39983 during corneal endothelium wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(1):318–29.
45. Miyagi H, Kim S, Li J, Murphy CJ, Thomasy SM. Topical Rho-Associated Kinase Inhibitor, Y27632, Accelerates Corneal Endothelial Regeneration in a Canine Cryoinjury Model. *Cornea.* 2019;38(3):352–9.

46. Price MO, Price FW, Jr. Randomized, Double-Masked, Pilot Study of Netarsudil 0.02% Ophthalmic Solution for Treatment of Corneal Edema in Fuchs Dystrophy. *Am J Ophthalmol*. 2021;227:100–5.
47. Lindstrom RL, Lewis AE, Holland EJ, Sheppard JD, Hovanesian JA, Senchyna M, et al. Phase 2, Randomized, Open-Label Parallel-Group Study of Two Dosing Regimens of Netarsudil for the Treatment of Corneal Edema Due to Fuchs Corneal Dystrophy. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2022;38(10):657–63.
48. Okumura N, Inoue R, Okazaki Y, Nakano S, Nakagawa H, Kinoshita S, et al. Effect of the Rho Kinase Inhibitor Y-27632 on Corneal Endothelial Wound Healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(10):6067–74.
49. Antonini M, Coassin M, Gaudenzi D, Di Zazzo A. Rho-Associated Kinase Inhibitor Eye Drops in challenging cataract surgery. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2022;25:101245.
50. Hoppenreijts VP, Pels E, Vrensen GF, Oosting J, Treffers WF. Effects of human epidermal growth factor on endothelial wound healing of human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33(6):1946–57.
51. Lu J, Lu Z, Reinach P, Zhang J, Dai W, Lu L, et al. TGF-beta2 inhibits AKT activation and FGF-2-induced corneal endothelial cell proliferation. *Exp Cell Res*. 2006;312(18):3631–40.
52. Xia X, Babcock JP, Blaber SI, Harper KM, Blaber M. Pharmacokinetic properties of 2nd-generation fibroblast growth factor-1 mutants for therapeutic application. *PLoS One*. 2012;7(11):e48210.
53. Kocaba V, Katikireddy KR, Gipson I, Price MO, Price FW, Jurkunas UV. Association of the Gutta-Induced Microenvironment With Corneal Endothelial Cell Behavior and Demise in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(8):886–92.
54. Roy O, Leclerc VB, Bourget JM, Thériault M, Proulx S. Understanding the process of corneal endothelial morphological change in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(2):1228–37.
55. Okumura N, Hashimoto K, Kitahara M, Okuda H, Ueda E, Watanabe K, et al. Activation of TGF- β signaling induces cell death via the unfolded protein response in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Sci Rep*. 2017;7(1):6801.
56. Jurkunas UV, Bitar MS, Funaki T, Azizi B. Evidence of oxidative stress in the pathogenesis of fuchs endothelial corneal dystrophy. *Am J Pathol*. 2010;177(5):2278–89.
57. Halilovic A, Schmedt T, Benischke AS, Hamill C, Chen Y, Santos JH, et al. Menadione-Induced DNA Damage Leads to Mitochondrial Dysfunction and Fragmentation During Rosette Formation in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Antioxid Redox Signal*. 2016;24(18):1072–83.
58. Kim EC, Meng H, Jun AS. N-Acetylcysteine increases corneal endothelial cell survival in a mouse model of Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Exp Eye Res*. 2014;127:20–5.
59. Lovatt M, Kocaba V, Hui Neo DJ, Soh YQ, Mehta JS. Nrf2: A unifying transcription factor in the pathogenesis of Fuchs' endothelial corneal dystrophy. *Redox Biol*. 2020;37:101763.
60. Kim EC, Toyono T, Berlinicke CA, Zack DJ, Jurkunas U, Usui T, et al. Screening and Characterization of Drugs That Protect Corneal Endothelial Cells Against Unfolded Protein Response and Oxidative Stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(2):892–900.
61. Ziaei A, Schmedt T, Chen Y, Jurkunas UV. Sulforaphane decreases endothelial cell apoptosis in fuchs endothelial corneal dystrophy: a novel treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(10):6724–34.

62. Peh GS, Beuerman RW, Colman A, Tan DT, Mehta JS. Human corneal endothelial cell expansion for corneal endothelium transplantation: an overview. *Transplantation*. 2011;91(8):811–9.
63. Navaratnam J, Utheim TP, Rajasekhar VK, Shahdadfar A. Substrates for Expansion of Corneal Endothelial Cells towards Bioengineering of Human Corneal Endothelium. *J Funct Biomater*. 2015;6(3):917–45.
64. Choi JS, Kim EY, Kim MJ, Khan FA, Giegengack M, D'Agostino R, Jr., et al. Factors affecting successful isolation of human corneal endothelial cells for clinical use. *Cell Transplant*. 2014;23(7):845–54.
65. Shao C, Fu Y, Lu W, Fan X. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for corneal endothelial dysfunction. *Cells Tissues Organs*. 2011;193(4):253–63.
66. Joyce NC, Harris DL, Markov V, Zhang Z, Saitta B. Potential of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells to heal damaged corneal endothelium. *Mol Vis*. 2012;18:547–64.
67. Zhang K, Pang K, Wu X. Isolation and transplantation of corneal endothelial cell-like cells derived from in-vitro-differentiated human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*. 2014;23(12):1340–54.
68. Chen P, Chen JZ, Shao CY, Li CY, Zhang YD, Lu WJ, et al. Treatment with retinoic acid and lens epithelial cell-conditioned medium in vitro directed the differentiation of pluripotent stem cells towards corneal endothelial cell-like cells. *Exp Ther Med*. 2015;9(2):351–60.
69. Yokoo S, Yamagami S, Yanagi Y, Uchida S, Mimura T, Usui T, et al. Human corneal endothelial cell precursors isolated by sphere-forming assay. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(5):1626–31.
70. Kinoshita S, Koizumi N, Ueno M, Okumura N, Imai K, Tanaka H, et al. Injection of Cultured Cells with a ROCK Inhibitor for Bullous Keratopathy. *N Engl J Med*. 2018;378(11):995–1003.
71. Ishino Y, Sano Y, Nakamura T, Connon CJ, Rigby H, Fullwood NJ, et al. Amniotic membrane as a carrier for cultivated human corneal endothelial cell transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(3):800–6.
72. Yoeruek E, Saygili O, Spitzer MS, Tatar O, Bartz-Schmidt KU, Szurman P. Human anterior lens capsule as carrier matrix for cultivated human corneal endothelial cells. *Cornea*. 2009;28(4):416–20.
73. Kopsachilis N, Tsinopoulos I, Tourtas T, Kruse FE, Luessen UW. Descemet's membrane substrate from human donor lens anterior capsule. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012;40(2):187–94.
74. Levis HJ, Kureshi AK, Massie I, Morgan L, Vernon AJ, Daniels JT. Tissue Engineering the Cornea: The Evolution of RAFT. *J Funct Biomater*. 2015;6(1):50–65.
75. Watanabe R, Hayashi R, Kimura Y, Tanaka Y, Kageyama T, Hara S, et al. A novel gelatin hydrogel carrier sheet for corneal endothelial transplantation. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(17-18):2213–9.
76. Kim do K, Sim BR, Khang G. Nature-Derived Aloe Vera Gel Blended Silk Fibroin Film Scaffolds for Cornea Endothelial Cell Regeneration and Transplantation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(24):15160–8.

77. Kim EY, Tripathy N, Cho SA, Joo CK, Lee D, Khang G. Bioengineered neo-corneal endothelium using collagen type-I coated silk fibroin film. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015;136:394–401.
78. Lai JY, Ma DH, Lai MH, Li YT, Chang RJ, Chen LM. Characterization of cross-linked porous gelatin carriers and their interaction with corneal endothelium: biopolymer concentration effect. *PLoS One*. 2013;8(1):e54058.
79. Mimura T, Shimomura N, Usui T, Noda Y, Kaji Y, Yamgami S, et al. Magnetic attraction of iron-endocytosed corneal endothelial cells to Descemet's membrane. *Exp Eye Res*. 2003;76(6):745–51.
80. Moysidis SN, Alvarez-Delfin K, Peschansky VJ, Salero E, Weisman AD, Bartakova A, et al. Magnetic field-guided cell delivery with nanoparticle-loaded human corneal endothelial cells. *Nanomedicine*. 2015;11(3):499–509.
81. Català P, Thuret G, Skottman H, Mehta JS, Parekh M, S ND, et al. Approaches for corneal endothelium regenerative medicine. *Prog Retin Eye Res*. 2022;87:100987.
82. Aldave AJ, Han J, Frausto RF. Genetics of the corneal endothelial dystrophies: an evidence-based review. *Clin Genet*. 2013;84(2):109–19.
83. Fautsch MP, Wieben ED, Baratz KH, Bhattacharyya N, Sadan AN, Hafford-Tear NJ, et al. TCF4-mediated Fuchs endothelial corneal dystrophy: Insights into a common trinucleotide repeat-associated disease. *Prog Retin Eye Res*. 2021;81:100883.
84. Ong Tone S, Kocaba V, Böhm M, Wylegala A, White TL, Jurkunas UV. Fuchs endothelial corneal dystrophy: The vicious cycle of Fuchs pathogenesis. *Prog Retin Eye Res*. 2021;80:100863.
85. Robbins PD, Ghivizzani SC. Viral vectors for gene therapy. *Pharmacol Ther*. 1998;80(1):35–47.
86. Hu J, Rong Z, Gong X, Zhou Z, Sharma VK, Xing C, et al. Oligonucleotides targeting TCF4 triplet repeat expansion inhibit RNA foci and mis-splicing in Fuchs' dystrophy. *Hum Mol Genet*. 2018;27(6):1015–26.
87. Hu J, Shen X, Rigo F, Prakash TP, Mootha VV, Corey DR. Duplex RNAs and ss-siRNAs Block RNA Foci Associated with Fuchs' Endothelial Corneal Dystrophy. *Nucleic Acid Ther*. 2019;29(2):73–81.
88. Zarouchlioti C, Sanchez-Pintado B, Hafford Tear NJ, Klein P, Liskova P, Dulla K, et al. Antisense Therapy for a Common Corneal Dystrophy Ameliorates TCF4 Repeat Expansion-Mediated Toxicity. *Am J Hum Genet*. 2018;102(4):528–39.
89. Moore CBT, Christie KA, Marshall J, Nesbit MA. Personalised genome editing - The future for corneal dystrophies. *Prog Retin Eye Res*. 2018;65:147–65.
90. Rong Z, Gong X, Hulleman JD, Corey DR, Mootha VV. Trinucleotide Repeat-Targeting dCas9 as a Therapeutic Strategy for Fuchs' Endothelial Corneal Dystrophy. *Transl Vis Sci Technol*. 2020;9(9):47.
91. Uehara H, Zhang X, Pereira F, Narendran S, Choi S, Bhuvanagiri S, et al. Start codon disruption with CRISPR/Cas9 prevents murine Fuchs' endothelial corneal dystrophy. *Elife*. 2021;10.

OBRAVNAVA POŠKODB ROŽENICE

Miha Marzidovšek¹, Zala Lužnik Marzidovšek¹

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

IZVLEČEK

Roženica je najbolj anteriorna struktura zrkla, zato je pogosto predmet različnih poškodb. Pri bolnikih s poškodbo očesa je potrebna natančna anamneza, klinični pregled in dokumentacija stanja ter ocena resnosti poškodbe. V prispevku obravnavamo mehanske, kemične in termične poškodbe. Med mehanske poškodbe roženice uvrščamo erozije roženičnega epitela, lamelarne laceracije, roženične tujke, kontuzijske poškodbe in penetrantne rane. Pri erozijah in lamelarnih laceracijah roženice je pomembno preprečevanje okužbe s profilaktično topično antibiotično zaščito in spodbujanje k celjenju rane. Skrbna primarna kirurška oskrba penetrantnih ran roženice lahko odpravi potrebo po sekundarnem kirurškem posegu. Tako stremimo k čim boljšemu refraktivnemu izidu poškodovanega očesa in preprečitvi nastanka endoftalmitisa. Pri otrocih moramo biti pozorni na preprečevanje nastanka ambliopije. Hude kemične in termične poškodbe očesa so redke, vendar lahko povzročijo hudo okvaro vida. Hitro in izdatno izpiranje je najpomembnejši takojšnji ukrep. Nadaljnje zdravljenje je usmerjeno v preprečevanje zapletov, ohranjanje celovitosti očesa in obnovitev očesne površine za optimizacijo izida kasnejših rekonstruktivnih posegov.

Ključne besede: poškodbe roženice, penetrantna rana roženice, kemične in termične poškodbe roženice

UVOD

Roženica je najbolj anteriorna struktura zrkla, zato je pogosto mesto različnih poškodb. Poškodbe lahko delimo glede na njihov mehanizem na

tope in ostre mehanske poškodbe, z ali brez tujka bodisi na kemične ali termične poškodbe. Ker je roženica tudi glavna lomna površina očesa, lahko že manjše spremembe njene strukture ali prozornosti povzročijo znatne težave z vidom.

PRISTOP K BOLNIKU S POŠKODBO ROŽENICE

Po izključitvi življenjsko ogrožajočega stanja je pri pristopu k bolniku s suspektno ali evidentno poškodbo roženice najprej pomembna natančna anamneza, ki nam pomaga in nas vodi pri kliničnem pregledu pod špransko svetilko ob različnih povečavah. Poleg morebitne roženične rane je vedno treba pregledati tudi vse ostale očesne strukture ter drugo, nepoškodovano oko. Dodatno si lahko pomagamo prikazati roženične rane tudi z različnimi barvili (npr. s fluoresceinskim barvilom). S tem ocenimo resnost stanja in lahko načrtno prepoznamo morebitne okultne poškodbe.

Izjemnega pomena je natančno dokumentiranje stanja, kar je še posebej pomembno pri poškodbah, ki so nastale pri delu ali zaradi druge osebe (odškodninski zahtevki). Pomemben je natančen opis dogodka in potencialnih tujkov. Pri tujkih moramo biti pozorni tudi na vrsto tujka in njihovo število. Tujki so lahko iz relativno inertnega materiala, kot sta steklo in plastika, ali iz materialov, ki pogosteje povzročajo vnetje, kot so nekatere kovine, organski tujki ali insekti. Pri topih poškodbah je pomembna oblika in sila udarca predmeta, pri sevanjih vrsta, valovna dolžina, moč izvora ter čas izpostavljenosti, pri kemičnih poškodbah pa vrsta kemikalije (kislina, baza, termična poškodba).

EROZIJA (ABRAZIJA) ROŽENIČNEGA EPITELA

Pri eroziji roženice pride do prekinitve in odstranitve epitelija roženice kot posledice delovanja tangencialne sile predmeta s površino roženice. Pogosti povzročitelji so nohti, papir, čopiči maskar in rastline. Pomembni brezkontaktni viri poškodb epitela vključujejo kemikalije, UV sevanje in toploto. Gre za ene najpogostejših oftalmoloških poškodb, ki lahko predstavljajo tudi 10 % vseh obiskov bolnikov na oftalmološki urgenci (1). Značilna klinična slika je močna bolečina, fotofobija, občutek tujka ter

solzenje. Pri pregledu s špranjsko svetilko določimo obseg abrazije epitela, obseg stromalne prizadetosti in prisotnosti drugih pridruženih poškodb. Pogosto lahko tujek z visoko hitrostjo in ostrimi robovi povzroči penetrantno rano roženice in ne pušča skoraj nobenih znakov, razen majhnega defekta epitelija.

Zdravljenje erozije roženice je usmerjeno v lajšanje bolnikovih simptomov, preprečevanje zapletov in spodbujanje celjenja epitelija. Za preprečevanje nastanka keratitisa se predpiše topični antibiotik, najpogosteje v obliki mazila. Čeprav je glavni simptom bolnikov bolečina, topičnih anestetikov za domačo rabo ne smemo nikoli predpisovati, saj zavirajo celjenje in povečajo možnost nastanka keratolize (2). Tudi glede uporabe topičnih nesteroidnih antirevmatikov za lajšanje bolečine so v literaturi deljena mnenja in moramo biti ob morebitnem predpisu izjemno previdni in pozorni na morebitno zaviranje celjenja, kar lahko vodi do keratomalacije in perforacije roženice (3). Tako za lajšanje bolečin najpogosteje predpišemo sistemski analgetik, morda tudi topični cikloplegik, s katerim zmanjšamo spazem ciliarnika. Za zdravljenje erozije se je vrsto let uporabljala preveza očesa, vendar lahko dolgotrajno pokrivanje olajša razmnoževanje mikroorganizmov v solznem filmu in tako potencialno poveča tveganje za nastanek sekundarnega mikrobnege keratitisa (4). Zato so potrebna natančna navodila, kdaj naj bolnik odstrani prevezo in ob prevezi nadaljuje z ustreznim topičnim zdravljenjem. Če bi uporabili terapevtsko kontaktno lečo, moramo bolnika pazljivo spremljati in mu predpisati profilaktično antibiotično topično zdravljenje v obliki kapljic (5). Še posebej moramo biti pozorni, če je bila erozija povzročena z organskim materialom, kjer je lahko povečano tveganje za sekundarni glivični keratitis. Priporočljiva je tudi nekajtedensko podporno zdravljenje z umetnimi solzami in/ali geli, saj lahko zmanjšamo tveganje za nastanek rekurentnih erozij.

Večina erozij roženice se zaceli v 24 do 48 urah brez brazgotin, če Bowmanova membrana ni bila prizadeta.

LAMELARNI LACERACIJA ROŽENICE (STROMALNA ABRAZIJA)

Stromalne abrazije so redkejše kot epitelne (5). Nastanejo predvsem pri poškodbi z ostrim predmetom, pogosto pri športu (npr. z nohtom pri

košarki). Klinično se kaže kot delno pritrjen ali popolnoma odtrgan reženj roženice. Pomembno je ugotoviti globino poškodbe in izključiti penetrantno rano.

Pri oskrbi rane je pomembna anatomsko pravilna postavitev režnja. V določenih primerih je potrebna dodatna fiksacija tkiva s fibrinskim lepilom in/ali šivi ter uporaba terapevtske kontaktne leče ter predpis profilaktičnega topičnega antibiotičnega zdravljenja (5). Pri obsežnejših in globljih poškodbah je včasih potrebna lamelarna ali penetrantna keratoplastika (5). Med komplikacije uvrščamo sekundarni mikrobní keratitis in brazgotinjenje, eden večjih zapletov pri teh bolnikih pa je refrakcijska sprememba površine roženice, ki jo je težko popraviti (5).

TOPE (KONTUZIJSKE) POŠKODBE ROŽENICE

Topa poškodba se nanaša na poškodbe, ki so posledica udarca z neostrim predmetom, pri katerih je poškodba tkiva posledica hitrega prenosa tlačne sile. Pri topi poškodbi roženice se poleg epitela najpogosteje poškoduje endotel roženice zaradi prenosa energije. Med pogostejše klinične slike tope poškodbe roženice uvrščamo difuzno endoteliopatijo, endotelni obroč in stromalne poke. Posebna podskupina topih poškodb so tudi poškodbe roženice, ki nastanejo pri porodu novorojenčka.

Difuzna travmatska endoteliopatija

Difuzna endoteliopatija nastane kot posledica močnega potiska roženice nazaj, kjer lahko pride do neposrednega udarca endotela ob lečo in do neposredne kontuzijske poškodbe endotela. Poškodovana je lahko tudi leča. V teh primerih poškodba običajno povzroči obsežen difuzen edem roženice z gubami membrane Descemet. Pogosteje pride do posredne poškodbe endotela brez udarca ob notranje očesne strukture. V teh primerih je edem roženice bolj lokaliziran (npr. udarec elastike). Pridružene so lahko tudi poškodbe sfinktra zenice, recesija zakotja, vnetna reakcija v sprednjem prekatu ali hifema. Čeprav se roženica pri večini bolnikov zbistri, so študije pokazale, da pride do trajne izgube endotelni celic (6, 7). Zdravljenje kontuzijske poškodbe endotela je usmerjeno v zmanjšanje vnetja ter zagotavljanje ustreznega zdravljenja pridruženih poškodb.

Endotelni obroč

Endotelni obroč je podvrsta travmatske endoteliopatije, ki jo je mogoče opaziti v povezavi z majhnimi, hitrimi tujki, ki ne prodrejo do roženice (8). Prvi jih je opisal Pichler leta 1916 pri bolnikih po poškodbah zaradi eksplozije (5). Natančna etiologija tega pojava ni jasna, verjetno je posledica prenosa hidrostatskega udarnega vala od udarnega tujka na endotel (9, 10). Te spremembe sčasoma izzvenijo.

Stromalne poškodbe in poke

Pri zadostni sili na roženico lahko nastanejo stromalne poke. Pogosto je poškodovana Bowmanova membrana. Če je prizadet tudi endotel, je prisoten roženični edem. Povečano tveganje za nastanek rupture zrkla je predvsem pri bolnikih s predhodnimi kirurškimi posegi na roženici (tj. radialna keratotomija, LASIK, keratoplastika) tudi več let po posegu (11–15).

Poškodbe pri porodu

Poškodbe roženice med porodom so relativno redke. Klinični znaki so poke membrane Descemet, edem roženice in brazgotine strome. V večini primerov edem, prisoten ob rojstvu, izgine v prvih nekaj tednih življenja, zato akutno zdravljenje ni potrebno, vendar je poškodbe roženice pri porodu treba diferencialno diagnostično ločiti od kongenitalnega glavkoma, kongenitalne hereditarne endotelne distrofije in Petersove anomalije. Poke v Descemetovi membrani lahko pomembno prispevajo k astigmatizmu roženice, kjer praviloma strma keratometrična os poteka vzporedno s poko (16) in povzroči miopizacijo prizadetega očesa (17). Zato je pomembno spremljanje otrok in preprečevanje nastanka ambliopije.

POŠKODBE ROŽENICE ZARADI IZPOSTAVLJENOSTI ULTRAVIJOIČNI SVETLOBI - FOTOKERATITIS

Roženica je najbolj občutljiva na ultravijolično sevanje (UV) v valovnih dolžinah med 260 in 280 nm. Najpogostejše vrste UV-poškodb roženice so keratitis pri varilcih, snežna slepota in keratitis po izpostavljenosti sončnim žarkom. Akutni simptomi se običajno pojavijo 8–12 ur po izpostavljenosti.

Zgodnji simptomi vključujejo občutek draženja v očesu, ki mu sledijo bolečina, fotofobija in občutek tujka.

Klinično se kaže kot izguba normalnega roženičnega odseva z epitelnimi defekti. Roženica je lahko tudi rahlo edematozna, lahko z minimalno vnetno reakcijo v sprednjem prekatu. Zdravljenje je podobno kot pri eroziji roženice. Bolečina in nelagodje popustita in izzvenita v naslednjih 24–48 urah, praviloma je okrevanje brez posledic (5), zdravljenje je podobno kot pri eroziji roženice z aplikacijo topičnega antibiotika in po potrebi cikloplegika.

ROŽENIČNI TUJKI

Poleg erozij so tujki roženice najpogostejša oblika oftalmološke travme. V študiji v severni Švedski je bila pojavnost poškodb oči ocenjena na 8,1 na 1000 prebivalcev, pri čemer tujki roženice in veznice predstavljajo 40 % teh (18). Večina poškodb roženice s tujki ni huda in ne povzroča dolgotrajnih posledic. Po odstranitvi tujka je zdravljenje podobno kot pri eroziji roženice z aplikacijo širokospektralnega antibiotika in po potrebi cikloplegika. Posebna pozornost je potrebna pri organskih tujkih roženice (rastline, žuželke ipd.), saj lahko te vrste materialov povzročijo poškodbe roženice z dolgotrajnimi posledicam. Tuj material rastlinskega izvora ima visoko stopnjo mikrobne kontaminacije. Zaradi tega je treba vsakega bolnika s tujkom rastlinskega izvora pozorno spremljati, da lahko pravočasno ugotovimo okužbe, in opraviti ustrezne laboratorijske preiskave – bris roženice s posebno pozornostjo na glivične okužbe. Deli žuželk, kot so dlake gosenice (npr. borovega prelca) in pajkov (npr. tarantele), lahko povzročijo znatne vnetne tujkove reakcije v roženici. Dlake lahko migrirajo v roženico, kjer povzročajo draženje in srbenje. Sčasoma lahko migrirajo v globoko stromo in celo v sprednji prekat (19, 20). Zdravljenje mora biti usmerjeno v zmanjšanje vnetja in čim hitrejšo odstranitev dlačic, ki štrljijo s površine epitelijske, če je to mogoče. S časom in zdravljenjem s kortikosteroidi naj bi se dlake, ki ostanejo v roženici, resorbirale (19).

PIKI ŽUŽELK

Najpogostejša povzročiteljka med žuželkami sta čebela in osa, katerih strup povzroča toksično in alergično reakcijo. Presentacija je takojšnja s hudo bolečino, solzenjem in poslabšanjem vida. V nekaterih primerih so veke otekle. Bulbarna veznica je pordela in hemotična. Na roženici je prisoten infiltrat različne gostote na mestu vboda, z edemom bodisi omejenim na epitelij in sprednjo stromo ali vso debelino roženice. Na mestu vboda žela je lahko defekt epitela. Pri nekaterih bolnikih se v nekaj dneh razvijejo fina mreža epiteljskih gub ter gube membrane Descemete. Številni avtorji poročajo o aktivnem iritisu z endotelnimi precipitati, pri enem bolniku so poročali o hifemi (21), lahko so pridružene tudi okvare irisa (atrofija) in leče (anteriorne skalitve). Potrebna je odstranitev žuželkinih delov v celoti, če je mogoče, ter aplikacija topikalnih kortikosteroidov in cikloplegikov. Okrevanje je običajno dobro, čeprav se lahko na območju vboda razvije nekaj vaskularizacije roženice.

PENETRANTNE RANE ROŽENICE

Penetrantna rana roženice zajema celotno debelino roženice, ki nastane pri poškodbi z ostrim predmetom ali tujkom. Potrebna je čimprejšnja oskrba rane za preprečevanje nastanka endoftalmitisa in tkivne nekroze. Kirurški cilji vključujejo povrnitev normalne očesne anatomije in optimalne vidne funkcije. Za doseg teh ciljev je potreben kirurški načrt, ki vključuje ustrezno pripravo očesne površine, ohranitev tkiva in zmanjšanje iatrogene travme. Oskrba penetrantne rane roženice ponavadi poteka v splošni anesteziji, redkeje v topični anesteziji (in sedaciji). Zaradi tveganja za povišan znotrajočesni tlak in morebitnega prolapsa znotrajočesne vsebine se izogibamo peribulbarnim ali retrobulbarnim blokom. Po vstavitvi blefarostata izperemo oko, izogibamo se dajanju joda in antibiotičnih kapljic vanjo (5).

Primarna kirurška oskrba rane

Cilj šivanja roženice je narediti rano vodotesno z minimalnimi brazgotinami in rekonstrukcijo pravilne konture roženice s posledično čim

manjšim pridobljenim astigmatizmom. Za šivanje roženice se uporablja monofilamentni najlon šiv 10-0 na fini mikrokirurški igli. Roženični šivi morajo zajemati 90 % globine strome in biti enako globoki na obeh straneh rane. Preplitvi šivi lahko povzročijo notranjo vrzel v rani, asimetrični šivi pa povzročijo prekrivanje rane. Šivi preko celotne debeline roženice vzpostavijo kanal s sprednjim prekatom, zato lahko pride do mikrobnе invazije in posledično do nastanka endoftalmitisa. Izogibati se je treba šivom v vidni osi. Če to ni mogoče, lahko brazgotine v vidni osi zmanjšamo z uporabo krajših šivov. Za zmanjšanje nastanka astigmatizma po oskrbi večjih penetrantnih ran roženice lahko šive na periferiji roženice postavimo daljše in tesnejše (kompresijski šivi – s tem je roženica periferno bolj ploska in centralno strmejša) (22, 23), v centru pa krajše in z manjšo tenzijo (apozicijski šivi). Vsi vozli so kratko odrezani in zakopani v stromo, stran od vidne osi. Penetrantne rane roženice s premerom, manjšim od 2 mm, je mogoče zapreti z nanosom tkivnega lepila (fibrinsko lepilo, cianokarilat) (24).

Pri korneoskleralnih laceracijah je najprej treba nastaviti šiv na limbusu, nato opraviti postopno lokalizirano peritomijo veznice za določanje obsega rane sklere in iskanje morebitnih tujkov, prolapsa uvee ali steklovine. Rano sklere sprotno šivamo. Za šivanje sklere se uporablja poliglaktinski (Vicryl, Ethicon) resorbilni šiv 7-0 ali 8-0 (5).

Ob koncu primarne oskrbe rane v sprednji prekat apliciramo antibiotik.

Pooperativno zdravljenje in spremljanje

Pooperativno predpišemo topični in sistemski profilaktični antibiotik, topični kortikosteroid (posebna previdnost je potrebna pri ranah z organskim materialom). Po potrebi dodamo umetne solze za vlaženje očesne površine. Preverimo antitetanično zaščito bolnika.

Odstranitev šivov

Roženični šivi se odstranijo, ko so ohlapni, da se prepreči morebiten defekt epitelijskega in nastanek razjede roženice ali abscesa. Indikacija za odstranitev je tudi vaskularizacija spodaj ležeče strome. Sicer se roženični šivi odstranijo po vsaj treh do štirih mesecih, ko je že pričakovani nastanek fibroze. Pri otrocih se rana celi hitreje, zato je treba šive odstraniti v nekaj tednih (5).

Zapleti

Po poškodbi in primarni oskrbi je možen nastanek endoftalmitisa, hifeme, povišanega znotraj očesnega tlaka, puščanje rane ali vraščanje epitela v sprednji prekat (25).

Rehabilitacija vida

Po zacelitvi rane in odstranitvi šivov po potrebi predpišemo ustrezno korekcijo s predpisom očal ali poltrdih kontaktnih leč v primeru iregularnega astigmatizma. Če s tem ne dosežemo zadovoljivih rezultatov, pridejo v poštev transplatacija roženice (penetranta, lamelarna, rotacijska keratoplastika) in refraktivni posegi (keratotomija za korekcijo astigmatizma, klinasta resekcija itd.) (5).

KEMIČNE POŠKODBE

Kemične poškodbe očesa so nujna oftalmološka stanja, ki lahko povzročijo trajno okvaro vida ali celo slepoto. Ocenjuje se, da zaradi kemičnih poškodb očesa vsako leto po vsem svetu oslepi 107.000 ljudi (26).

Kislina in baze so povzročitelji, ki so najpogosteje povezani z resnimi kemičnimi poškodbami oči. Stopnja poškodb je odvisna od številnih dejavnikov: koncentracije in pH raztopine, obsega izpostavljenosti očesne površine in trajanja izpostavljenosti očesa pred začetkom ustreznega zdravljenja (27). Te poškodbe lahko dodatno poslabšajo tujki, na primer betonski ostanki, kovinski delci ali rastlinski material.

Kislina naj bi težje prodirale v globlje očesne strukture kot baze, saj povzročijo denaturacijo tkivnih beljakovin in koagulacijsko nekrozo, ki naj bi tvorila oviro pred globljim prodiranjem kemikalije (28). Pri poškodbah z bazami pride do saponifikacije maščobnih kislin celičnih membran in kolikvacijske nekroze, kar v teoriji omogoča globlje prodiranje kemikalije. Študije v vsakodnevni praksi dejansko niso pokazale klinično pomembnih razlik v kliničnem poteku in napovedi med resnimi kislinskimi in alkalnimi opeklinami (29).

Klasifikacija

Zgodnja ocena resnosti kemične poškodbe mora vključevati natančno dokumentacijo obsega poškodbe roženice, limbusa, veznice in adneksov, saj zagotavlja pomembno vodilo za napoved celjenja in načrt zdravljenja.

Klasifikacija po Roper – Hallu (30) je bila uvedena sredi šestdesetih let prejšnjega stoletja. Upošteva prognostične smernice na podlagi stopnje okvare roženice, ki jo klasificira glede na obseg poškodbe epitela roženice in motnosti strome ter obsega perilimbalne ishemije.

Od uvedbe Roper – Hallove klasifikacije je prišlo do sprememb v razumevanju in zdravljenju poškodb očesne površine. Zlasti se je izboljšalo razumevanje in upoštevanje vloge limbusa pri celjenju ran. Da bi upošteval te spremembe, je Dua leta 2001 predlagal novo klasifikacijsko shemo, ki temelji na obsegu limbalne poškodbe v urah kot tudi na odstotku prizadetosti veznice (31) (tabela 1).

Tabela 1: Dua klasifikacija kemičnih poškodb očesa. *V analogni lestvici sta navedena okvara limbusa v urah in obseg poškodbe bulbarne veznice v odstotkih.

Dua klasifikacija kemičnih poškodb očesa				
Stopnja	Napoved	Klinične najdbe (okvara limbusa)	Obseg poškodbe veznice	Analogna lestvica* okvara limbusa (ure)/ obseg poškodbe bulbarne veznice (%)
I	Zelo dobra	0 ur	0 %	0/0 %
II	Dobra	<3 ure	<30 %	0,1–3/1–29,9 %
III	Dobra	3–6 ur	30–50 %	3,1–6/31–50 %
IV	Vprašljiva/dobra	6–9 ur	50–75 %	6,1–9/51–75 %
V	Vprašljiva/slaba	9–12 ur	50–100 %	9,1–11,9/ 75,1–99,9 %
VI	Zelo slaba	12 ur (v celoti)	100 % (v celoti)	12/100 %

Zdravljenje

Začetno ukrepanje vključuje takojšnje izpiranje, everzijo vek in odstranitev kemičnih ostankov iz očesa. Cilja sta zmanjšati vdor kemičnega sredstva v sprednji prekat in odstraniti potencialni rezervoar za nadaljnjo poškodbo. Najpomembnejši ukrep za zmanjšanje resnosti poškodbe je takojšnje obilno izpiranje, dokler ni dosežena nevtralizacija pH (32).

Nadaljnje zdravljenje kemičnih poškodb je usmerjeno v zmanjšanje vnetja, preprečevanje stromalne razgradnje, spodbujanje reepitelizacije ter preprečevanje zapletov. Retrospektivna študija bolnikov z opekljami z bazo s poškodbami stopnje III po Roper – Hallu je pokazala, da je bilo intenzivno zdravljenje s kombinacijo lokalnih kortikosteroidov, antibiotikov, askorbinske kisline in citrata, atropina in peroralnega vitamina C najučinkovitejša pri zdravljenju glede na čas do reepitelizacije roženice in ostrino vida (33). V isti študiji je intenzivno zdravljenje upočasnilo reepitelizacijo pri poškodbah stopenj I in II, kar so avtorji pripisali verjetni toksičnosti zdravil in zaviranju reepitelizacije s kortikosteroidom (33).

Protivnetno zdravljenje

V literaturi so mnenja glede uporabe topičnih kortikosteroidov in časa njihove uporabe pri zdravljenju kemičnih poškodb očesa še vedno deljena (5). Medtem je dobro poznana njihova protivnetna vloga, saj zavirajo vnetne celice in sproščanje encima kolagenaze. Zavirajo tudi obnovo roženične strome, saj zavirajo migracijo keratocitov v poškodovani predel in sintezo kolagena, s čimer lahko povzročijo tanjšanje roženice (28). Sterilna razjeda (*angl.* sterile ulceration) nastane kot posledica neravnovesja med sintezo in razgradnjo kolagena strome (28). V prvem tednu po poškodbi je tveganje za razjedo relativno nizko, saj še niso vzpostavljeni mehanizmi celjenja roženične strome in je uporaba kortikosteroidov do 10. dneva relativno varna (5, 28, 34). Med 10. in 14. dnem po kemični poškodbi se tveganje za nastanek razjede lahko poveča, saj pride do vzpostavitve mehanizmov celjenja, zato sta potrebna previdnost pri dolgoročnem predpisovanju kortikosteroidov in natančno titriranje (5, 28). V kasnejših študijah je bilo ugotovljeno, da prolongirana uporaba topičnih kortikosteroidov ob uporabi topične askorbinske kisline ni povečala tveganja za tanjšanje roženice ali sklere-keratomalacije (*angl.* corneoscleral melting) (33, 35).

Preprečevanje keratomalacije

Za preprečevanje keratomalacije lahko predpišemo sistemski tetraciklin (npr. doksiciklin 100 mg na dan), ki inhibira delovanje kolagenaz in drugih encimov (npr. metaloproteinaze) (36). Topični azitromicin je zmanjšal TNF-alfa inducirano apoptozo epitelnih in endotelnih celic v podganjem modelu kemične poškodbe z bazo (37), tako se proučuje tudi učinek azitromicina na preprečevanje keratomalacije. Pri kemičnih poškodbah in posledično možnih poškodbah epitela ciliarnika lahko pride do zmanjšanja sinteze askorbinske kisline v prekatno vodko. Askorbinska kislina je eden glavnih kofaktorjev pri sintezi kolagena, zato jo nadomeščamo topično in/ali sistemsko (kapljice 10% natrijevega citrata in/ali per oralno 1000 mg askorbinske kisline do 4-krat na dan) za preprečevanja nastanka keratomalacije (28, 38). Askorbinska kislina v primeru že prisotne razjede roženice ne prepreči njene progresije. Za razliko od askorbinske kisline je citrat učinkovit tako pri preprečevanju kot progresiji roženičnih razjed (39).

Spodbujanje reepitelizacije in celjenja

Presaditev amnijske membrane lahko uporabimo v akutni fazi zdravljenja za zmanjšanje vnetja, spodbujanje epitelizacije in posledično zmanjšanje brazgotinjenja (40). Pri hudih kemičnih poškodbah, kjer je nevarnost nekroze sprednjega segmenta ob popolni odsotnosti limbalnih žil, lahko uporabimo reženj preostalega neprizadetega tenonija za kritje tega predela (41). Izogibati se moramo prenosom samo vezničnih režnjev, saj lahko povzročijo prekomerno vaskularizacijo roženice, ne zatesnijo perforacij in lahko kasneje otežijo kirurško rekonstrukcijo očesne površine (5). Za preprečevanje nastanka simblefarona lahko uporabimo simblefaronski prstan.

Za podporo celjenja lahko predpišemo tudi umetne solze brez konzervansa, kot tudi avtologne serumske kapljice, ki so bogate z rastnimi faktorji. Obstajajo tudi druge možnosti dodatnega zdravljenja, npr. serum iz popkovine, avtologna plazma bogata s trombociti (PRP) in homogenat amnijske membrane. Preventivno uporabljamo topični antibiotik brez konzervansa. Za uravnavanje očesnega tlaka po potrebi predpišemo antiglavkomsko zdravljenje (inhibitorje nastajanja prekatne vodke) ter cikloplegik.

Zdravljenje dolgoročnih posledic kemičnih poškodb

Hude kemične poškodbe kljub ustreznemu akutnemu zdravljenju pogosto puščajo številne posledice na adneksih in okvaro očesne površine zaradi poškodb limbalnih matičnih celic roženice in pogosto tudi veznice. Tako je zdravljenje in vodenje takih bolnikov zelo kompleksno, potrebni so rekonstrukcijski posegi na očesni površini in vekah, pogosto v več fazah. Pred rekonstrukcijo očesne površine je treba vzpostaviti pravilno delovanje vek. Potrebna je korekcija simblefarona in ankiloblefarona, entropija, ekotropija, trihiazе, retrakcije vek in lagoftalmosa. Kemične poškodbe so eden izmed pogostejših vzrokov popolnega pomanjkanja limbalnih matičnih celic. Pred morebitno presaditvijo roženice (globoko anteriorno lamelarno keratoplastiko – *angl.* Deep anterior lamellar keratoplasty, DALK ali penetrantno keratoplastiko, PKP) za izboljšanje vidne ostrine ob stromalnih brazgotinah (42) je tako nujno stabilizirati očesno površino in omogočiti obnovo epitelov s presaditvijo matičnih celic, saj je preživetje roženičnega presadka v nasprotnem primeru slabo. Obstajajo številni kirurški pristopi, ki omogočajo presaditev limbalnih matičnih celic. Če limbalnih matičnih celic ne moremo presaditi, je na voljo za rehabilitacijo vida v določenih primerih tudi uporaba keratoprotez (Boston KPro type 1, Boston KPro type 2, osteo-odonto-keratoprosthesis) (43).

TERMIČNE POŠKODBE

Resnost termične poškodbe je odvisna od trajanja in količine prenešene toplote. Klinično sta lahko prisotni oteklina in opeklina kože vek in kasneje posledično nastanek entropija in lagoftalmosa. Prisotne so lahko poškodbe veznice in roženice od manjši punktarnih epitelnih defektov do globljih opeklini ran ali celo nekroze. Pri obsežnih opekliniškimi poškodbah očesa in adneksov je možen nastanek orbitalnega utesnitvenega sindroma zaradi obsežnega puščanja kapilar v orbiti (5). V tem primeru sta potrebni takojšnja kantotomija in kantoliza (5).

Zdravljenje opekliniškimi poškodb je takojšnje izpiranje in odstranitev morebitnih tujkov, intenzivno vlaženje očesne površine z umetnimi solzami ali geli brez konzervansov in profilaktični topični antibiotik v primeru epitelni defektov. Za preprečevanje nastanka ekspozijske keratopatije

lahko dodatno uporabimo vlažilno komoro, opravimo transplantacijo amnijske membrane, tarzorafijo ali vstavimo terpevtsko kontaktno lečo.

ZAKLJUČEK

Pri bolnikih s poškodbo očesa je potrebna natančna anamneza, klinični pregled in dokumentacija stanja ter ocena resnosti poškodbe. Pri penetrantnih ranah roženice lahko skrbna primarna kirurška oskrba odpravi potrebo po sekundarnem kirurškem posegu. Tako stremimo k čim boljšemu refraktivnemu izidu poškodovanega očesa in preprečitvi nastanka endoftalmitisa. Pri otrocih moramo biti pozorni na preprečevanje nastanka ambliopije.

Hude kemične in termične poškodbe očesa so redke, vendar lahko povzročijo hudo okvaro vida in ogrozijo celovitost očesa, kar še vedno predstavlja terapevtski izziv. Hitro in izdatno izpiranje je najpomembnejši ukrep. Nadaljnje zdravljenje je usmerjeno v preprečevanje zapletov, ohranjanje celovitosti očesa in obnovitev očesne površine za optimizacijo prognoze kasnejših rekonstruktivnih posegov.

LITERATURA

1. Chiapella AP, Rosenthal AR. One year in an eye casualty. *Br J Ophthalmol.* 1985;69:865–70.
2. Rosenwasser GO, Holland S, Pflugfelder SC, Lugo M, Heidemann DG, Culbertson WW, et al. Topical anesthetic abuse. *Ophthalmology.* 1990;97(8):967–72.
3. Weaver CS, Terrell KM. Evidence-based emergency medicine. Update. Do ophthalmic non-steroidal inflammatory drugs reduce the pain associated with simple corneal abrasion without delaying healing? *Ann Emerg Med.* 2003;41(1):134–40.
4. Kirkpatrick JNP, Hoh HB, Cook SD. No eye pad for corneal abrasion. *Eye.* 1993;7:468–71.
5. Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea. (5th Edition).* [Canada]: Elsevier - OHCE; 2021. p. 996–23, 1508–21.
6. Slingsby JG, Forstot SL. Effect of blunt trauma on the corneal endothelium. *Arch Ophthalmol.* 1981;99:1041–43.
7. Roper-Hall MJ, Wilson RS, Thompson SM. Changes in endothelial cell density following accidental trauma. *Br J Ophthalmol.* 1982;66:518–19.
8. Cibis GW, Weingeist TA, Krachmer JH. Traumatic corneal endothelial rings. *Arch Ophthalmol.* 1978;96:485–88.

9. Forstot SL, Gasset AR. Transient traumatic posterior annular keratopathy of Payrau. *Arch Ophthalmol*. 1974;92:527–28.
10. Maloney W.F, Colvard M, Bourne W.M, et al. Specular microscopy of traumatic posterior annular keratopathy. *Arch Ophthalmol*. 1979;97:1647–50.
11. Forstot SL, Damiano RE. Trauma after radial keratotomy. *Ophthalmology*. 1988;95:833–5.
12. Simons KB, Linsalata RP, Zaragosa AM. Ruptured globe secondary to blunt trauma following radial keratotomy. *J Refract Surg*. 1988;4:132–35.
13. Pearlstein ES, Agapitos PJ, Cantrill HL, et al. Ruptured globe after radial keratotomy. *Am J Ophthalmol*. 1988;106:755–6.
14. Binder P, Waring 3rd. G.O, Arrowsmith P.N, et al. Histopathology of traumatic corneal rupture after radial keratotomy. *Arch Ophthalmol*. 1988;106:1584–90.
15. Bloom HR, Sands J, Schneider D. Corneal rupture from blunt trauma 22 months after radial keratotomy. *Refract Corneal Surg*. 1990;6:197–99.
16. Hofmann RF, Paul TO, Penteli-Molnar J. The management of corneal birth trauma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1981;18(1):45–7.
17. Angell LK, Robb RM, Berson FG. Visual prognosis in patients with ruptures in Descemet's membrane due to forceps injuries. *Arch Ophthalmol*. 1981;99:2137–9.
18. Mönestam E, Björnstig U. Eye injuries in northern Sweden. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1991;69:1–5.
19. Chang PCT, Soong HK, Barnett JM. Corneal penetration by tarantula hairs (letter). *Br J Ophthalmol*. 1991;75(4):253–54.
20. Hered RW, Spaulding AG, Sanitato JJ, et al. Ophthalmia nodosa caused by tarantula hairs. *Ophthalmology*. 1988;95(2):166–69.
21. Chen CJ, Richardson CD. Bee sting-induced ocular changes. *Ann Ophthalmol*. 1986;18:285–6.
22. Rowsey J. Corneal laceration repair: topographic considerations in suturing techniques. In: Shingleton B, Hersh P, Kenyon K, eds. *Eye trauma*. St. Louis: Mosby; 1991.
23. Rowsey JJ. Ten caveats in keratorefractive surgery. *Ophthalmology*. 1983;90(2):148–55.
24. Sharma A, Kaur R, Kumar S, et al. Fibrin glue versus N-butyl-2-cyanoacrylate in corneal perforations. *Ophthalmology*. 2003;110(2):291–8.
25. Anseth A, Dohlman CH, Albert DM. Epithelial downgrowth-fistula repair and keratoplasty. *Refract Corneal Surg*. 1991;7(1):23–7.
26. White ML, Chodosh J, Jang J, Dohlman C. Incidence of Stevens-Johnson syndrome and chemical burns to the eye. *Cornea*. 2015;34(12):1527–33.
27. Merle H, Gerard M, Schrage N. [Ocular burns]. *J Fr Ophtalmol*. 2008;31(7):723–34.
28. Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol*. 1997;41(4):275–313.
29. Kuckelkorn R, Kottek A, Reim M. [Intraocular complications after severe chemical burns-incidence and surgical treatment]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1994;205(2):86–92.
30. Roper-Hall MJ. Thermal and chemical burns. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1965;85:631–53.
31. Dua HS, King AJ, Joseph A. A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(11):1379–83.

32. Ikeda N, Hayasaka S, Hayasaka Y, Watanabe K. Alkali burns of the eye: effect of immediate copious irrigation with tap water on their severity. *Ophthalmologica*. 2006;220(4):225–8.
33. Brodovsky SC, McCarty CA, Snibson G, et al. Management of alkali burns: an 11-year retrospective review. *Ophthalmology*. 2000;107(10):1829–35.
34. Donshik PC, Berman MB, Dohlman CH, et al. Effect of topical corticosteroids on ulceration in alkali-burned corneas. *Arch Ophthalmol*. 1978;96(11):2117–20.
35. Davis AR, Ali QK, Aclimandos WA, Hunter PA. Topical steroid use in the treatment of ocular alkali burns. *Br J Ophthalmol*. 1997;81(9):732–4.
36. Ralph RA. Tetracyclines and the treatment of corneal stromal ulceration: a review. *Cornea*. 2000;19(3):274–7.
37. Arikan S, Karaca T, Ertekin YH, Comez AT, Ersan I, Demirtas S, et al. Effect of Topically Applied Azithromycin on Corneal Epithelial and Endothelial Apoptosis in a Rat Model of Corneal Alkali Burn. *Cornea*. 2016;35(4):543–9.
38. Pfister RR, Paterson CA, Spiers JW, Hayes SA. The efficacy of ascorbate treatment after severe experimental alkali burns depends upon the route of administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1980;19(12):1526–9.
39. Pfister RR, Haddox JL, Yuille-Barr D. The combined effect of citrate/ascorbate treatment in alkali-injured rabbit eyes. *Cornea*. 1991;10(2):100–4.
40. Meller D, Pires RT, Mack RJ, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology*. 2000;107(5):980–89 discussion 990.
41. Gicquel JJ. Management of ocular surface chemical burns. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(2):159–61.
42. Sepsakos L, Cheung AY, Holland EJ. Outcomes of keratoplasty after ocular surface stem cell transplantation. *Cornea*. 2017;36(9):1025–30.
43. Shanbhag SS, Saeed HN, Paschalis EI, Chodosh J. Boston keratoprosthesis type 1 for limbal stem cell deficiency after severe chemical corneal injury: a systematic review. *Ocul Surf*. 2018;16(3):272–81.

OBRAVNAVA OKUŽB ROŽENICE

Nataša Vidović Valentinčič^{1, 2}

¹*Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana*

²*Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani*

IZVLEČEK

Roženične okužbe lahko ogrozijo vid in ga ireverzibilno okvarijo. Najpogostejši povzročitelji so bakterije, sledijo virusi, glive in protozoi. Pojavnost in etiologija okužb se razlikujeta glede na geografsko lokacijo in lokalne dejavnike tveganja.

Glavni dejavniki tveganja vključujejo nošenje kontaktnih leč, bolezni očesne površine, sistemske bolezni, poškodbe roženice ter kirurške posege na roženici. Ker je hiter začetek zdravljenja ključen za preprečevanje trajnih poškodb, je treba čim prej uvesti empirično zdravljenje, še posebej pri sumu na bakterijsko okužbo. Nadaljnji terapevtski pristop mora biti prilagojen specifični etiologiji, resnosti okužbe in lokalnim vzorcem odpornosti patogenov.

V prispevku podrobneje obravnavamo najpogostejše povzročitelje, pristop k zdravljenju, izbiro zdravljenja ter morebitne zaplete roženičnih okužb.

Ključne besede: infekcijski keratitis, antibiotično zdravljenje, povzročitelji

UVOD

Roženične okužbe predstavljajo resno grožnjo vidu in zahtevajo hitro ter učinkovito zdravljenje. Najpogosteje se manifestirajo kot infekcijski keratitis (IK). IK je četrti najpogostejši vzrok slepote na svetu, pojavnost v državah v razvoju je od 113 do 799 na 100.000 oseb letno (1, 2, 3). Nasprotno je v razvitih državah pojavnost bistveno nižja, od 2,5 do 130,4 primerov na 100.000 oseb letno, večja incidenca je povezana z nošenjem kontaktnih leč

(3, 4). IK predstavlja resen javnozdravstveni problem in oftalmološko nujno stanje (4).

NAJPOGOSTEJŠI POVZROČITELJI INFEKJSKEGA KERATITISA

Etiologija okužb roženice je povezana s podnebnimi, socialno-ekonomskimi in predispozicijskimi dejavniki tveganja (6, 7) – pojavnost posameznih povzročiteljev se razlikuje glede na geografsko lokacijo in lokalne dejavnike tveganja. Na primer v južni Indiji pogosteje poročajo o okužbah s *Streptococcus pneumoniae* in *Nocardia* spp, medtem ko so v severni Evropi okužbe z *Nocardia* spp redkejše (8, 9).

Povzročitelji IK so:

1. Bakterijski

Bakterijski povzročitelji so najpogostejši vzrok IK.

- a. Grampozitivni predstavljajo 62 % bakterijskega keratitisa (9):
 - i. Koagulaza negativni stafilokoki so odgovorni za 24–46 % okužb (11, 12). So komenzali očesne površine in bolj virulentni pri lokalnih stanjih, ki promovirajo okužbe roženice (po operacijah, suho oko ...).
 - ii. *Staphylococcus aureus* je povezan s 5–36 % okužb, s sistemskimi boleznimi, npr. sladkorno boleznijo (12), in pooperativnimi zapleti. Sem spada tudi okužba z MRSA (na meticilin odporen *S. aureus*). V nekaterih regijah poročajo o visoki občutljivosti na fluorokinolone.
 - iii. *Streptococcus pneumoniae* je odgovoren za 7–16 % okužb (11, 13) in je visoko virulenten (14).
- b. Gramnegativni, manj pogosti povzročitelji so odgovorni za približno 30 % bakterijskih keratitisev (10), a so večinoma agresivnejši:
 - i. *Pseudomonas aeruginosa* je odgovoren za 17–32,5 % okužb (12) in je močno povezan predvsem z nošenjem kontaktnih leč – kar 76 % okužb s *P. aeruginosa* se je pojavilo pri tovrstni poulaciji (15). Gre za močno virulenten mikroorganizem, ki v nekaj urah povzroči stromalno nekrozo.
 - ii. *Moraxella* spp je pomemben patogen, ki predstavlja 18,1 % primerov okužb v Franciji, zlasti med kroničnimi alkoholiki in

starejšimi bolniki. Okužbe se pogosto kažejo z večjimi in globljimi infiltrati ter podaljšanim časom celjenja (12).

- iii. *Enterobacteriaceae* in *Corynebacterium* skupaj prispevajo k 15 % okužb, pogosto v tropskih regijah ali pri imunsko oslabljenih gostiteljih (11).

2. Virusni

- a. Virus herpesa simpleksa tipa 1 (HSV-1) je najpogostejši virusni povzročitelj keratitisa, odgovoren za 60–90 % virusnih okužb roženice, ter je tudi najpogostejši povzročitelj z okužbo povezane roženične slepote v razvitem svetu (16, 17). HSV-1 po primarni okužbi vzpostavi latenco v trigeminalnem gangliju. Reaktivacija zaradi stresa, imunosupresije ali izpostavljenosti UV-žarkom vodi do ponovnega keratitisa. Klinične manifestacije vključujejo:
 - i. Dendritični keratitis (ulkus) – najpogostejše oblika reaktivacije (56 %).
 - ii. Stromalni keratitis – 30 % rekurence.
 - iii. Geografski ulkus – 10 % rekurence (17).
- b. Virus varičele zostra (VZV): Klinična slika pri 8–20 % bolnikov z diagnozo zostra vključuje oftalmični herpes zoster (HZO). Reaktivacija virusa v obliki HZO povzroči keratitis v 65 % primerov (18). Značilni znaki so:
 - i. Pseudodendriti.
 - ii. Numularni keratitis (stromalni infiltrati v obliki kovanca).
 - iii. Nevrotrofični ulkusi (zaradi denervacije roženice).
 Keratitis v nasprotju s HSV zaradi VZV pogosto spremlja Hutchinsonov znak (mehurčki na nosni konici) in zahteva sistemska virostatična zdravila (npr. aciklovir) v kombinaciji s kortikosteroidi zaradi stromalnega vnetja.
- c. Adenovirusni keratokonjunktivitis oziroma epidemični keratokonjunktivitis (EKC) je zelo nalezljiv in se širi z dihalnimi kapljicami ali fomitami. Povzročajo ga serotipi adenovirusa 8, 19 in 37. Izbruhi EKC običajno trajajo od nekaj tednov do nekaj mesecev (19).

3. Glivni

Glivni keratitis predstavlja 20–60 % pozitivnih mikrobioloških kultur v primerih keratitisa v tropskih regijah (20). Dejavniki tveganja vključujejo poškodbe v kmetijstvu, izpostavljenost rastlinskim snovem in kronično uporabo kortikosteroidov.

a. Filamentozne glive

- i. *Fusarium* spp: 40–70 % glivičnih keratitsov v tropih (20).
- ii. *Aspergillus* spp: 15–30 % primerov, pogosto v sušnem podnebj (20).

b. Kvasovke

- i. *Candida* spp povzroča 5–25 % glivičnih keratitsov, predvsem v zmernem pasu (20). Dejavniki tveganja so kronična bolezen očesne površine, nošenje kontaktnih leč in imunosupresija.

4. Protozojski

- a. *Acanthamoeba* spp so prosto živeči protozoji, ki povzročajo 85–95 % primerov protozojskega keratitisa, predvsem pri uporabnikih kontaktnih leč z nepravilno higieno in/ali rabo (21).

DEJAVNIKI TVEGANJA

Dejavniki tveganja za IK so glede na podatke večje britanske študije naslednji (11, 12):

1. nošenje kontaktnih leč v 45–50 %,
2. bolezni očesne površine v 21–25 %,
3. sistemske bolezni v 25 %,
4. poškodbe roženice v 11–15 %,
5. kirurški posegi na roženici v 4–9 %.

Le pri dobrih 9 % bolnikov z bakterijskim keratitisom ni bilo mogoče indentificirati dejavnika tveganja.

HITROST ZAČETKA ZDRAVLJENJA

IK, predvsem bakterijski keratitis, je nujno stanje, ki zahteva takojšnje ukrepanje. Zdravljenje je treba začeti takoj po postavitvi klinične diagnoze, le izjemoma lahko počakamo na rezultate kultur. Zgodnje in agresivno zdravljenje je ključnega pomena za zamejitev sprememb roženice in zmanjševanje okvare oz. preprečevanje izgube vida predvsem pri povzročiteljih hiperakutnega poteka, kot so *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella* spp in *Streptococcus* spp.

Algoritem ukrepanja ob novougotovljeni okužbi roženice (22, 23):

1. Takojšnje, začetno zdravljenje – prvih 60 minut:
 - Bolniki z akutno nastalo bolečino, fotofobijo, infiltrati roženice ali hipopionom.
 - Pomembno je hitro prepoznavanje dejavnikov tveganja, kot so nošenje kontaktnih leč, poškodbe roženice ali imunosupresija, saj ti znatno povečajo verjetnost infekcijske etiologije.
2. V 1–2 urah – odvzem vzorca in empirično zdravljenje:
 - Odvzem postržka na mestu okužbe roženice: za kulturo in PCR, pred začetkom uporabe antibiotikov v primerih, ki niso nujni (glej spodnjo točko).
 - Če je ulkus centralno in >2 mm, se zdravljenje ne odloži za več kot 2 uri, tudi če se postržka ne odvzame.

Terapevtsko okno:

Prvih 24 ur je kritično obdobje za obvladovanje okužb (24–26):

1. Bakterijski keratitis – prvih 6 ur: začetno visokofrekventno antibiotično zdravljenje (kapljice na 5–15 minut).
 - Če ni odziva v 24 urah (vztrajna bolečina, širjenje infiltrata), sledi premislek o uporabi ojačanih antibiotikov.
2. Glivni, akatamebni in virusni keratitis – postržek roženice, nato specifično zdravljenje.
 - 24–72 ur: spremljanje odgovora in prilagoditve zdravljenja.

Treba je stremeti k zdravljenju, ki je usmerjeno v izvid kulture postržka (npr. MRSA → vankomicin; pseudomonasna okužba → ceftazidim).

Opisan agresivni pristop k zdravljenju zagotavlja hitro doseganje terapevtskih koncentracij antibiotika v roženici in preprečuje nadaljnje širjenje okužbe.

IZBIRA ZDRAVLJENJA

Izbira empiričnih lokalnih antibiotikov pri najpogostejšem, tj. **bakterijskem keratitisu**, zahteva uravnotežen pristop, ki upošteva protimikrobno pokritost, lokalne vzorce odpornosti, resnost vnetja in dejavnike tveganja, značilne za bolnika.

Za začetno empirično zdravljenje bakterijskega keraritisa se najpogosteje uporabljata dve glavni skupini antibiotikov:

1. Fluorokinoloni:
 - a. Moksifloksacin, 0,5%,
 - b. Gatifloksacin, 0,3%,
 - c. Ciprofloksacin, 0,3%,
 - č. Levofloksacin, 0,5%.
2. Ojačani antibiotiki ali kombinacije:
 - a. Cefazolin, 5% (lahko v kombinaciji s tobramicinom ali gentamicinom),
 - b. Tobramicin, 1,4%,
 - c. Gentamicin, 1,4%,
 - č. Vankomicin, 1%, 3% ali 5%.

Antibakterijski spekter (21):

1. Fluorokinoloni

Fluorokinoloni so priljubljena izbira zaradi svoje širokospektralne aktivnosti proti Grampozitivnim in Gramnegativnim bakterijam ter dobre penetrance v očesna tkiva. Novejše generacije fluorokinolonov, kot sta moksifloksacin in gatifloksacin, so učinkovitejše proti Grampozitivnim bakterijam v primerjavi s starejšimi predstavniki te skupine, kot je npr ciprofloksacin.

2. Ojačani antibiotiki

Cefazolin je učinkovit proti večini Grampozitivnih bakterij. Aminoglokozidni, kot je tobramicin/gentamicin, dobro delujejo proti Gramnegativnim bakterijam, vključno s *Pseudomonas aeruginosa*. Vankomicin je učinkovit predvsem proti Grampozitivnim bakterijam. Kombinacija ojačanih antibiotikov omogoča širok spekter delovanja, ki pokriva večino pogostih in tudi manj pogostih povzročiteljev bakterijskega keratitisa. Uporablja se kot alternativa fluorokinolonom, zlasti v primerih, kjer obstaja sum na odporne bakterije.

Trenutne smernice in študije se gibljejo v naslednjem okviru (23, 24, 25, 28, 29):

1. Razširjenost patogenov in trendi odpornosti
 - Prevladujejo Grampozitivni organizmi: *Staphylococcus* spp (koagulaza negativni stafilokoki, *S. aureus*) in *S. pneumoniae* predstavljata 62 % primerov bakterijskega keratitisa na svetu (10).
 - Gramnegativni: *P. aeruginosa* še vedno prevladuje pri uporabnikih kontaktnih leč (75 % primerov (15)).

Pojavlja se odpornost:

 - Odpornost MRSA na starejše fluorokinolone (ciprofloksacin, levofloksacin) v nekaterih regijah presega 40 % (11, 28).
 - *Streptococcus* spp kažejo naraščajočo odpornost proti fluorokinolonom, predvsem starejšim (27).

2. Empirični protokol za izbiro antibiotikov (tabela 1)

Korak 1: Ocena resnosti razjede in dejavnikov tveganja.

Blage/periferne razjede:

- Fluorokinoloni četrte generacije: širok spekter delovanja proti Grampozitivnim (vključno s streptokoki) in Gramnegativnim bakterijam in boljša penetranca skozi roženico v primerjavi s starejšimi fluorokinoloni (npr. ciprofloksacinom) (tabela 2).
- Prvi izbor v regijah z nizko prevalenco MRSA (<10 %).

Hude/centralne razjede (>2mm):

- Ojačano kombinirano zdravljenje, ki pokriva MRSA, streptokoke in *pseudomonas*.

- Prednost ima v okoljih z visokim tveganjem (poškodbe v kmetijstvu, imunsko oslabljeni gostitelji).

Tabela 1: Antibiotično zdravljenje za bakterijski keratitis (AAO 2023) (26)

Mikroorganizem	Antibiotik	Topično doziranje	Subkonjunktivalno doziranje
Grampozitivni koki	Cefazolin	50 mg/mL	100 mg/0,5 mL
	Vankomicin	25–50 mg/mL	25 mg/0,5 mL
	Moksifloksacin	5–6 mg/mL	?
	Gatifloksacin		
	Levofloksacin		
Gramnegativni koki	Besifloksacij		
	Ceftriakson	50 mg/mL	100 mg/0,5 mL
	Ceftazidim	50 mg/mL	100 mg/0,5 mL
	Ciprofloksacin	3–6mg/mL	?
	Ofloksacin		
	Moksifloksacin		
	Gatifloksacin		
Grampozitivni bacili	Levofloksacin		
	Besifloksacin		
	Sulfacetamid	100 mg/mL	
	Amikacin	20–40 mg/mL	20 mg/0,5 mL
	TMP/SM		
Gramnegativni bacili	Tobramicin	16 mg/mL	
	SM	80 mg/mL	
	Tobramicin	9–14 mg/mL	20 mg/0,5 mL
	Ceftazidim	50 mg/mL	100 mg/0,5 mL
	Ciprofloksacin	3–6mg/mL	?
	Ofloksacin		
	Moksifloksacin		
	Gatifloksacin		
	Levofloksacin		
	Besifloksacin		

Mikobakterije	Klaritromicin	10 mg/mL, 0,03%	?
	Moksifloksacin	5–6mg/mL	
	Gatifloksacin		
	Besifloksacin		
	Amikacin	20–40 mg/mL	
Neznano	Ojačan cefazolin+	50 mg/mL	100 mg/0,5 mL
	Ojačan tobramicin	9–14 mg/mL	20 mg/0,5 mL
	ali fluorokinolon	3–6mg/mL	?

Tabela 2: Empirično zdravljenje – primerjava fluorokinolonov (26)

	Ciprofloksacin	Moksifloksacin
Kritje Grampozitivnih	zmerno	zelo dobro
Kritje Gramnegativnih	zelo dobro	zmerno
Penetranca	zmerna	zelo dobra
Toleranca	zmerna	dobra
Doziranje	urno	najmanj 6-krat dnevno
Strošek	nizki	višji

Izbira virostatikov pri virusnem keratitisu:

- HSV, VZV: Prva vrsta zdravljenja keratitisa v epitelni obliki običajno vključuje lokalna protivirusna zdravila, kot sta aciklovir in ganciklovir. Pri hujših ali ponavljajočih se primerih ter pri stromalnem keratitisu in geografskih razjedah roženice je potrebno sistemsko protivirusno zdravljenje. V primerih neepitelnih oblik keratitisa se lahko previdno uporabijo kortikosteroidi, vendar šele po obvladovanju aktivne okužbe. Kortikosteroidi ublažijo imunopatološko škodo, ne da bi ogrozili odstranjevanje virusa. V starejši študiji HEDS iz leta 1994 (31) so bili lokalni kortikosteroidi bistveno boljši od placeba pri zmanjševanju vztrajanja ali napredovanja stromalnega vnetja in pri skrajšanju trajanja stromalnega keratitisa herpesa simpleksa. Pri ponavljajočem se keratitisu je potrebna dolgotrajna sistemska virostatična profilaksa.
- Pri drugih virusnih vzrokih, kot je adenovirus, je na splošno poudarek na podpornem zdravljenju, vključno z vlažilnimi kapljicami za oči in

protivnetnimi/imunosupresivnimi kapljicami. Diagnozo potrdimo s kliničnim pregledom in/ali mikrobiološko diagnozo ter glede na epidemiološke podatke. Trajanje zdravljenja je odvisno od resnosti in odziva na zdravila, običajno traja od nekaj dni do nekaj tednov. Redno spremljanje je pomembno zaradi spremljanja zapletov, kot so brazgotinjenje strome ali sekundarne bakterijske okužbe. Topični kortikosteroidi prehodno izboljšajo stanje, vendar se po ukinitvi zdravljenja imunski infiltrati roženične strome lahko ponovno pojavijo – povratni fenomen (*angl.* rebound).

PENETRANCA TOPIČNIH ANTIBIOTIKOV

Penetranca antibiotikov v roženično stromo in sprednji prekat je ključnega pomena za učinkovito zdravljenje. Novejši fluorokinoloni imajo boljšo penetranco v primerjavi s starejšimi (32):

1. Moksifloksacin:
 - Roženična koncentracija: 14,38 µg/g.
 - Koncentracija v sprednjem prekatu: 4,78 ng/µL.
2. Ofloksacin:
 - Roženična koncentracija: 6,48 µg/g.
 - Koncentracija v sprednjem prekatu: 1,26 ng/µL.
3. Ciprofloksacin:
 - Roženična koncentracija: 3,46 µg/g.
 - Koncentracija v sprednjem prekatu: 1,02 ng/µL.

Moksifloksacin dosega približno dvakrat višje koncentracije v roženici kot ofloksacin in štirikrat višje kot ciprofloksacin. V sprednjem prekatu so koncentracije moksifloksacina približno 3,5-krat višje od ciprofloksacina ali ofloksacina. Razlike v penetranci lahko pomembno vplivajo na učinkovitost zdravljenja, zlasti pri globokih okužbah roženice ali okužbah, ki se širijo v sprednji prekat.

STRANSKI UČINKI DOLGOTRAJNE UPORABE ANTIBIOTIČNIH KAPLJIC

Dolgotrajna uporaba topičnih antibiotikov lahko povzroči različne neželene učinke:

1. Razvoj odpornosti bakterij: Podaljšana uporaba antibiotičnih kapljic in prenizka frekvenca aplikacije lahko vodi do nastanka odpornih sevov bakterij, kar otežuje zdravljenje prihodnjih okužb.
2. Toksičnost za očesno površino: Dolgotrajna uporaba lahko poškoduje roženični epitelij in povzroči draženje, rdečino in nelagodje.
3. Alergijske reakcije: Nekateri bolniki lahko razvijejo alergijske reakcije na antibiotik ali konzervanse v kapljicah.
4. Solzni film: Pogosto kapljanje potencialno poslabša simptome suhega očesa.
5. Roženični depoziti: Nekateri antibiotiki, kot so fluorokinoloni, lahko pri dolgotrajni uporabi povzročijo nastanek depozitov v roženici.

Za zmanjšanje tveganja opisanih stranskih učinkov je pomembno, da se skrbno spremlja dolgotrajna uporaba. Če je že potrebno dolgotrajno zdravljenje, se priporočata uporaba kapljic brez konzervansov in redna ocena stanja očesne površine.

UVEDBA TOPIČNIH STEROIDOV

V študiji iz leta 2014 (30) je bilo z randomiziranim placebom nadzorovanim in dvojno maskiranim multicentričnim kliničnim preskušanjem preučevano, ali dodatni lokalni kortikosteroidi izboljšajo dolgoročne rezultate pri bakterijskih razjedah roženice. V raziskavo je bilo vključenih 500 bolnikov z bakterijskim keratitisom s pozitivno kulturo, ki so 48 ur prejeli lokalni moksifloksacin. Ti bolniki so bili nato naključno razvrščeni v dve skupini: ena je prejela 1-odstotni predizolon natrijev fosfat, druga pa placebo. Citirana študija obravnava klinične rezultate po 12 mesecih zdravljenja. Rezultati so pokazali, da lahko dodatni kortikosteroidi dolgoročno izboljšajo vid in niso povezani z dodatnimi zapleti pri nenokardijskih razjedah roženice, pri nokardijskih pa poslabšanje brazgotinjenje in so kontraindicirani.

Lokalno zdravljenje s kortikosteroidi je priporočljivo tudi pri neepitelnih oblikah keratitisa HSV in VZV, vendar šele po začetku ustreznega zdravljenja z virostatiki.

Kortikosteroidi lahko zmanjšajo vnetje in brazgotinjenje roženice, vendar lahko tudi upočasnijo celjenje epitelijskega in potencialno poslabšajo okužbo, če se uporabljajo nepravilno. Zato je ključnega pomena, da se odločitev o uporabi kortikosteroidov sprejme individualno za vsakega bolnika, ob upoštevanju vrste in resnosti okužbe ter odziva na začetno antibiotično zdravljenje.

Uvedba topičnih steroidov pod naslednjimi pogoji:

1. Po vsaj 48 urah specifičnega zdravljenja, ko je okužba pod nadzorom.
2. **Ne** pri sumu na okužbo z akantamebo, nokardijo ali glivo.
3. Uporaba naj bo pod strogim nadzorom oftalmologa.
4. Postopno zmanjševanje odmerka steroida in pozorno spremljanje morebitnega poslabšanja stanja.

Identifikacija patogena ostaja ključnega pomena za usmerjanje prilagojenega zdravljenja.

SISTEMSKO ANTIMIKROBNO ZDRAVLJENJE

1. Antibiotiki

Sistemskih antibiotikov se pri nezapletenem bakterijskem keratitisu rutinsko ne priporoča, saj lokalno zdravljenje v večini primerov doseže zadostno koncentracijo v roženici, penetranca v roženico pri sistemski aplikaciji pa ni dobra, zlasti če gre za blago vnetje (33). V specifičnih kliničnih situacijah je sistemska aplikacija smiselna in potrebna, in sicer ko obstaja tveganje za perforacijo roženice ali je do nje že prišlo, ob širjenju okužbe na beločnico ali pri specifičnih mikroorganizmih, ki zahtevajo sistemsko zdravljenje, na primer *Gonococcus* spp in *Chlamdia* spp (34). Sistemski antibiotiki se uporabljajo kot dopolnilo topičnemu zdravljenju.

2. Virostatiki

Sistemske virostatike se priporočajo pri vseh neepitelni oblikah okužbe roženice s HSV in VZV.

3. Antimikotiki

Sistemska antimikotična zdravila so rezervirana za glivični keratitis z globoko invazijo v stromo (>50 %), širjenjem na beločnico ali pri imunokompromitiranih bolnikih. Protokol, ki obsega lokalno + sistemsko + ciljno zdravljenje, dosegla 79,8-odstotni uspeh in je pri specifičnih podskupinah bolnikov učinkovitejši od monoterapije (35).

PRIPOROČILA ZA TOPIČNO ANTIBIOTIČNO ZDRAVLJENJE KERATITISOV

1. Empirični širokospektralni antibiotik takoj po postavitvi klinične diagnoze in odvzemu postržka okuženega mesta roženice za ustrezne mikrobiološke preiskave (razen izjem).
2. Fluorokinoloni novejših generacij (npr. moksifloksacin) ali kombinacija ojačanih antibiotikov (cefazolin + tobramicin/gentamicin) glede na lokalne vzorce odpornosti.
3. Intenzivno odmerjanje vsaj prvih 6 ur.
4. Dodatek topičnih kortikosteroidov, razen če so kontraindicirani (glej zgoraj), po 48 urah specifičnega zdravljenja, kliničnih znakov ustreznosti specifičnega zdravljenja in ob načrtovanih rednih kontrolah oftalmologa.
5. Prilagoditev zdravljenja glede na rezultate kultur in klinični odziv.
6. Razmislek o uporabi kapljic brez konzervansov pri dolgotrajnem zdravljenju.
7. Zagotovitev ustreznega izobraževanja bolnika o pravilni uporabi kapljic in znakov poslabšanja stanja.
8. Če klinični odziv ni zadovoljiv, je treba ponoviti anamnezo, ponoviti postržek po terapevtski pavzi, pomisliti na multimikrobni vzrok ali drugega povzročitelja, preveriti komplianco in pravilnost uporabe predpisanih zdravil ter napotiti na višji nivo.

ZAKLJUČEK

Zdravljenje roženičnih okužb zahteva hiter, agresiven in individualiziran pristop. Ključnega pomena sta zgodnja klinična diagnoza in predvsem pri bakterijski etiologiji takojšnje začetno empirično zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki. Izbira antimikrobnih zdravil naj temelji na lokalnih vzorcih odpornosti in penetranci izbranega zdravila v očesna tkiva. Uporaba topičnih kortikosteroidov mora biti previdna in pod strogim nadzorom. Z ustreznim zdravljenjem in skrbnim spremljanjem lahko dosežemo dobre rezultate in preprečimo zaplete ter trajne okvare vida.

LITERATURA

- 1 Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the management of infectious keratitis. *Ophthalmology* 2017;124(11):1678–89. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.05.012. PMID:28942073
- 2 Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bulletin of the world health organization* 2001; 79(3):214–21. Epub 2003 Jul 7. PMID:11285665
- 3 Ung L, Bispo PJM, Shanbhag SS, Gilmore MS, Chodosh J. The persistent dilemma of microbial keratitis: Global burden, diagnosis, and antimicrobial resistance. *Surv Ophthalmol.* 2019 May-Jun;64(3):255–271. doi: 10.1016/j.survophthal.2018.12.003. Epub 2018 Dec 24. PMID: 30590103.
- 4 Lam DSC, Houang E, Fan DSP, Lyon D, Seal D, Wong E. Incidence and risk factors for microbial keratitis in Hong Kong: comparison with Europe and North America. *Eye* 2001;16(5):608–618. doi:10.1038/sj.eye.6700151. PMID:12194077
- 5 Russello G, Moramarco A, Vizzini L, Farina C, Fontana L, Carretto E. Diagnostic approach and epidemiology of Microbial Keratitis: findings from an Italian Tertiary Care center. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2021 Nov;101(3):115470. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115470. PMID: 34352436.
- 6 Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Padmavathy S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbial keratitis in South India: influence of risk factors, climate, and geographical variation. *Ophthalmic epidemiol* 2007;14(2):61-69. doi:10.1080/09286580601001347. PMID:17464852.
- 7 Bourcier T, Thomas F, Borderie V, Chaumeil C, Laroche L. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol.* 2003 Jul;87(7):834–8. doi:10.1136/bjo.87.7.834. PMID: 12812878.
- 8 <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/nocardia.html>. Dostopano 20.2.2025.
- 9 Lalitha P. Nocardia keratitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2009;20(4):318–23. doi: 10.1097/ICU.0b013e32832c3bcc. PMID:19387343.

- 10 Zhang Z, Cao K, Liu J, Wei Z, Xu X, Liang Q. Pathogens and Antibiotic Susceptibilities of Global Bacterial Keratitis: A Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*.2022;11(2):238.doi: 10.3390/antibiotics11020238.PMID:35203840.
- 11 Ting DSJ, Ho CS, Deshmukh R, Said DG, Dua HS. Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance. *Eye (Lond)*.2021;35(4):1084–1101.doi: 10.1038/s41433-020-01339-3.Erratum in: *Eye (Lond)*. 2021;35(10):2908.doi:10.1038/s41433-021-01568-0.PMID:33414529.
- 12 Bertret C, Knoeri J, Leveziel L, Bourcier T, Brignole-Baudouin F, Merabet L, Bouheraoua N, Borderie VM. Predisposing factors, clinical and microbiological insights of bacterial keratitis: analysis of 354 cases from a leading French academic centre. *Br J Ophthalmol* 2024;109(1):15-20. doi:10.1136/bjo-2024-325261. PMID: 38925906.
- 13 <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-clinical-microbiological-profile-infectious-keratitis-S0213005X17302215>. Dostopano 20. 2. 2025.
- 14 Marquart ME, O'Callaghan RJ. Infectious Keratitis: Secreted Bacterial Proteins That Mediate Corneal Damage, *Journal of Ophthalmology* 2013;369094:9 pages.doi. org/10.1155/2013/369094.
- 15 <https://www.practiceupdate.com/content/pseudomonas-aeruginosa-keratitis-in-contact-lens-vs-non-contact-lens-wearers/114778>. Dostopano 20. 2. 2025.
- 16 Mader TH, Stulting RD. Viral keratitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6(4):831–49. PMID: 1334105.
- 17 Labetoulle M, Auquier P, Conrad H, Crochard A, Danilowski M, Bouée S, El Hasnaoui A, Colin J. Incidence of herpes simplex virus keratitis in France. *Ophthalmology* 2005;112(5):888-doi: 10.1016/j.ophtha.2004.11.052. PMID: 15878072.
- 18 Liesegang TJ. Herpes zoster ophthalmicus natural history, risk factors, clinical presentation, and morbidity. *Ophthalmology* 2008;115(2Suppl):S3-12.doi: 10.1016/j.ophtha.2007.10.009. PMID: 18243930.
- 19 <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6232a1.html>. Dostopano 20. 2. 2025.
- 20 Brown L, Leck AK, Gichangi M, Burton MJ, Denning DW. The global incidence and diagnosis of fungal keratitis. *Lancet Infect Dis* 2021;21(3):e49–e57.doi: 10.1016/S1473-3099(20)30448-5.PMID: 33645500.
- 21 Radford CF, Minassian DC, Dart JK. Acanthamoeba keratitis in England and Wales: incidence, outcome, and risk factors. *Br J Ophthalmol* 2002;86(5):536-42. doi: 10.1136/bjo.86.5.536.PMID:11973250.
- 22 Arunga S, Burton M. Emergency management: microbial keratitis. *Community Eye Health* 2018;31(103):66–67.PMID: 30487686.
- 23 <https://www.rveeh.ie/app/uploads/2022/06/Clinical-Guideline-Microbial-Keratitis-Final-2022.pdf>. Dostopano 20.2.2025.
- 24 McClintic SM, Prajna NV, Srinivasan M, Mascarenhas J, Lalitha P, Rajaraman R, Oldenburg CE, O'Brien KS, Ray KJ, Acharya NR, Lietman TM, Keenan JD. Visual outcomes in treated bacterial keratitis: four years of prospective follow-up. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(5):2935–40.doi:10.1167/iops.14-13980. PMID: 24618327.

- 25 Gokhale NS. Medical management approach to infectious keratitis. *Indian J Ophthalmol* 2008;56(3):215–20. doi:10.4103/0301-4738.40360. PMID:18417822
- 26 <https://www.ao.org/education/preferred-practice-pattern/bacterial-keratitis-ppp-2023>. Dostopano 20. 2. 2025.
- 27 Austin A, Schallhorn J, Geske M, Mannis M, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Empirical treatment of bacterial keratitis: an international survey of corneal specialists. *BMJ Open Ophthalmol* 2017;2(1):e000047. doi: 10.1136/bmjophth-2016-000047. PMID: 29226254.
- 28 <https://www.orthobullets.com/basic-science/9059/antibiotic-classification-and-mechanism?section=bullets>. Dostopano 20. 2. 2025.
- 29 Daniell M. Overview: Initial antimicrobial therapy for microbial keratitis. *Br J Ophthalmol* 2003;87(9):1172–4. doi: 10.1136/bjo.87.9.1172. PMID:12928292.
- 30 Wilhelmus KR, Gee L, Hauck WW, Kurinij N, Dawson CR, Jones DB, Barron BA, Kaufman HE, Sugar J, Hyndiuk RA, et al. Herpetic Eye Disease Study. A controlled trial of topical corticosteroids for herpes simplex stromal keratitis. *Ophthalmology* 1994;101(12):1883–95; discussion 1895–6. doi:10.1016/s0161-6420(94)31087-6. PMID:7997324.
- 31 Silva GCM, Jabor VAP, Bonato PS, Martinez EZ, Faria-E-Sousa SJ. Penetration of 0.3% ciprofloxacin, 0.3% ofloxacin, and 0.5% moxifloxacin into the cornea and aqueous humor of enucleated human eyes. *Braz J Med Biol Res* 2017;50(7):e5901. doi: 10.1590/1414-431X20175901. PMID: 28678917.
- 32 Srinivasan M, Mascarenhas J, Rajaraman R, Ravindran M, Lalitha P, O'Brien KS, Glidden DV, Ray KJ, Oldenburg CE, Zegans ME, Whitcher JP, McLeod SD, Porco TC, Lietman TM, Acharya NR., Steroids for Corneal Ulcers Trial Group. The steroids for corneal ulcers trial (SCUT): secondary 12-month clinical outcomes of a randomized controlled trial. *Am J Ophthalmol* 2014;157(2):327–333.e3. doi: 10.1016/j.ajo.2013.09.025. PMID: 24315294.
- 33 Cunha-Vaz J. The blood-ocular barriers. *Surv Ophthalmol* 1979;23(5):279–96. doi:10.1016/0039-6257(79)90158-9. PMID:380030.
- 34 O'Brien TP. Management of bacterial keratitis: beyond exorcism towards consideration of organism and host factors. *Eye (Lond)* 2003;17(8):957–74. doi: 10.1038/sj.eye.6700635. PMID:14631403.
- 35 Sharma N, Sahay P, Maharana PK, Singhal D, Saluja G, Bandivadekar P, Chako J, Agarwal T, Sinha R, Titiyal JS, Satpathy G, Velpandian T. Management Algorithm for Fungal Keratitis: The TST (Topical, Systemic, and Targeted Therapy) Protocol. *Cornea* 2019;38(2):141–145. doi:10.1097/ICO.0000000000001781. PMID: 30334872.

OKUŽBE ROŽENICE PRI NOSILCIH KONTAKTNIH LEČ

Miha Marzidovšek¹, Zala Lužnik Marzidovšek¹

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

IZVLEČEK

Uporaba kontaktnih leč (KL) je ena izmed najbolj priljubljenih metod za korekcijo refraktivnih napak, vendar predstavlja tudi pomembno tveganje za okužbe roženice. Lahko se kažejo od začetnih infiltratov do hudih mikrobnih keratitisov, ki lahko povzročijo trajno izgubo vida. Največje tveganje za razvoj okužb predstavljajo nošenje KL preko noči ali njihova podaljšana uporaba, neustrezna higiena, stik z vodo, uporaba pretesno prilegajočih KL, kajenje ter sistemske bolezni, kot sta sladkorna bolezen in imunosupresija. Bakterijski keratitis je najpogostejša oblika okužbe. Med najpogostejšimi povzročitelji sta *Pseudomonas aeruginosa* in *Staphylococcus aureus*. Glivični in *Acanthamoeba* spp keratitis sta redkejša, a pogosto hujšega poteka. Pri preprečevanju okužb je ključnega pomena izobraževanje bolnikov o pravilni uporabi in higieni KL. Zgodnje prepoznavanje simptomov in pravočasno zdravljenje zmanjšata možnost zapletov. V prispeku so predstavljeni dejavniki tveganja, klinična slika, najpogostejši povzročitelji mikrobnih okužb pri nosilcih KL in zdravljenje.

Ključne besede: kontaktna leča, dejavniki tveganja, mikrobnih keratitisov, *Pseudomonas aeruginosa*, glivični keratitis, paraziti

UVOD

Uporaba kontaktnih leč (KL) se je v zadnjih desetletjih močno povečala (1). Uporabnikom ne ponujajo samo kozmetične alternative nošnji očal ali refraktivnemu kirurškemu posegu, pogosto se uporabljajo tudi v terapevtske namene (npr. za korekcijo iregularnih astigmatizmov, visokih anizotropij, kozmetične, terapevtske KL idr.). Tako obstajajo različne skupine KL, ki jih

lahko delimo glede na vrsto materiala (npr. mehke, poltrde, hibridne), velikost (skleralne, semiskleralne, roženične) in način nošnje. Glede na način nošnje je treba ločiti med enodnevnimi KL (*angl.* daily disposable) in KL za večkratno uporabo (*angl.* daily wear reusable) kot tudi med KL, ki so registrirane za podaljšano nošnjo (*angl.* extended wear) in se lahko nosijo kontinuirano podnevi in tudi ponoči za določen čas (2). Leta 2016 je približno 90 % uporabnikov KL v Združenih državah Amerike nosilo mehke kontaktne leče (3).

Kljub številnim izboljšavam v materialih, načinu nošnje, in dezinfekcijskih sredstvih pa je uporaba KL še vedno povezana s številnimi zapleti, med katerimi so še posebej nevarni mikrobni keratitisi (1). Incidenca mikrobnih keratitsov pri nosilcih KL je ocenjena na 2–20 novih primerov na 10.000 nosilcev KL letno (1), od tega jih lahko 0,2–0,6 na 10.000 primerov vodi v izgubo vida (4). Povzročitelji mikrobnih keratitsov so bakterije, glive, paraziti in virusi. Pri nosilcih KL kar 90 % vseh mikrobnih keratitsov povzročajo bakterije (1). Bistveno redkejša sta glivični keratitis in keratitis, povzročen z *Acanthamoeba* spp. Kljub redkosti pa pomembno prispevata k morbiditeti in deležu hudo potekajočih mikrobnih okužb. Samo *Acanthamoeba* keratitis (AK) na primer predstavlja kar polovico hudo potekajočih keratitsov pri nosilcih KL (4).

Za preprečevanje mikrobnih keratitsov in hudih zapletov, ki lahko vodijo v trajno izgubo vida, so ključni primerno izobraževanje in ustrezen predpis KL lečečega oftalmologa ter zgodnje prepoznavanje in hitro zdravljenje teh okužb, če pride do pojava težav, kar opisujemo v prispevku.

DEJAVNIKI TVEGANJA ZA RAZVOJ MIKROBNEGA KERATITISA PRI NOSILCIH KONTAKTNIH LEČ

Mikrotravme epitela roženice ob hipoksični okvari in slabi higieni KL ustvarijo idealne pogoje za mikrobovno invazijo in proliferacijo ter razvoj mikrobnih keratitsov pri nosilcih KL. Največje tveganje za razvoj mikrobnih keratitsov predstavljata slaba higiena in nošenje KL med spanjem ali njihova podaljšana uporaba (3, 5), kar predstavlja skoraj 70–80 % vseh dejavnikov tveganja (5). Pomembni dejavniki tveganja so tudi nepravilno shranjevanje in čiščenje KL ter posodic za shranjevanje KL (npr. redka menjava tekočin

za čiščenje in shranjevanje KL, čiščenje KL ali posodic z vodo iz pip) (3). Tudi pri enodnevnih KL so ključni dejavniki tveganja za razvoj mikrobnega keratitisa nošnja KL med spanjem, pogosta uporaba KL, slaba higiena rok in kajenje (7). Veliko potencialnih zapletov je pri nosilcih KL mogoče preprečiti z izobraževanjem o pravilnem rokovanju in higieni leč (5–8).

Stik KL z vodo (bazeni, savne, tuširanje s KL ...) je še posebej pomemben dejavnik tveganja za okužbo z *Acanthamoeba* spp., saj ta pražival (protozoj) živi v zemlji in vodi in lahko okuži roženico ob poškodbi epitela (4, 6). Uporaba tesno prilegajočih KL lahko prispeva k hipoksični okvari roženice, kar poveča njeno občutljivost za okužbe (6). Čeprav so okužbe roženice pogosteje povezane z uporabo mehkih KL, so bile resno potekajoče bakterijske okužbe in AK povezani tudi z uporabo poltrdih KL v ortokeratologiji (9).

Dodatni pomembni dejavniki tveganja vključujejo kajenje in sistemske bolezni, kot sta sladkorna bolezen in imunosupresija, ter uporabo lokalnih zdravil, kot so kortikosteroidi (6).

KLINIČNA PREZENTACIJA

Pri obravnavi bolnika s sumom na mikrobni keratitis je ključnega pomena temeljita in natančna anamneza. Posebno pozornost je treba nameniti uporabi KL. Pomembno je pridobiti informacije o vrsti leč (mehke, poltrde, ortokeratološke itd.), načinu njihove uporabe (enodnevne, večkratne) ter higieni in pravilnem rokovanju z njimi. Prav tako je treba bolnika vprašati o morebitnih dejavnikih tveganja, kot so stik z vodo ali organskim materialom, spanje s kontaktnimi lečami ter uporaba topičnih zdravil ali prisotnost sistemskih bolezni.

Pri simptomih je še posebej pomembna ocena bolečine, saj lahko pomaga pri diferencialni diagnozi (5). Če se bolečina po odstranitvi KL še stopnjuje, obstaja velika verjetnost okužbe (6). Nenadna močna bolečina, ki traja več ur do nekaj dni, lahko nakazuje na bakterijsko okužbo, medtem ko dolgotrajna, vztrajajoča bolečina, ki se ne izboljša s standardnim zdravljenjem in traja več tednov, lahko kaže na okužbo z *Acanthamoeba* spp. ali glivično okužbo (6). Če bolečina po odstranitvi KL hitro izzveni, gre verjetno za sterilno vnetje (6).

Če se simptomi ponovijo ob ponovni uporabi KL, je vzrok najverjetneje povezan z lečo. Pekoč občutek ob vstavitvi KL lahko kaže na preobčutljivost na sredstva za shranjevanje in čiščenje leč, medtem ko pekoč občutek ali suhost po večurni uporabi pogosto nakazuje na sindrom suhih oči ali neustrezno prileganje KL (6).

Erozija roženičnega epitela

Roženični epitel predstavlja pomembno oviro proti vdoru mikroorganizmov v stromo roženice, le redke bakterije lahko prodrejo skozi intakten epitelij (6). Nastanek epitelne erozije pri uporabnikih KL je lahko resen zaplet in začetni znak infekcijskega keratitisa (6), zato je treba ob prisotnosti erozije epitela natančno pregledati tudi stromo roženice in ciljano iskati njene infiltrate, če so prisotni, ter jih obravnavati kot infekcijske (6). Erozij pri nosilcih KL nikoli ne pokrivamo, saj lahko pokrivanje očesa poveča temperaturo na površini roženice in dodatno omogoča rast bakterij (6). Nosilce KL z epitelno erozijo moramo zdraviti intenzivno z ustreznimi širokospektralnimi antibiotiki, ki vključujejo delovanje proti *Pseudomonas aeruginosa* (npr. fluorokinoloni 4. generacije, aminoglikozidi), saj se lahko že v nekaj urah razvije resna okužba (6). Topičnih steroidov pri začetnem zdravljenju erozij pri nosilcih KL ne predpisujemo (6). Kontrolni pregled je potreben naslednji dan ali prej, če bolniki opazijo poslabšanje bolečine, vida ali nastanek belkastih sprememb na roženici (6).

Stromalni infiltrati

Stromalni infiltrati nastanejo kot posledica migracije levkocitov (predvsem nevtrofilcev) v roženico iz limbalne vaskulature ali solz (6). To vpliva na prosojnost roženice, zato jih lahko vidimo kot belkaste lezije (6). Pri nosilcih KL so infiltrati lahko sterilni (*angl.* sterile contact lens-associated infiltrates) ali infekcijski (6).

Sterilni infiltrati, ki so pogostejši pri starejših od 60 let (verjetno zaradi povečane pogostosti blefaritsov in bakterijske obremenitve) in pri mlajših od 25 let (verjetno zaradi nepravilne uporabe KL), so benigni in jih ni treba zdraviti (10). Sterilni periferni subepitelni infiltrati so lahko povezani tudi z akutno in kronično hipoksijo (6). Pri hudi kronični hipoksiji roženice se lahko razvijejo globoka neovaskularizacija, brazgotinjenje in lipidna keratopatija

(6). Bakterijski toksini se lahko vežejo na KL (6). Tako lahko KL poškoduje epitel roženice in povzroči okužbi, kot sta periferna razjeda roženice zaradi KL (*angl.* contact lens peripheral ulcer, CLPU) in rdeče oko, povezano s KL (*angl.* contact lens-associated red eye, CLARE) (6, 11). CLPU je pogostejši pri podaljšanem nošenju KL (*angl.* extended wear) in pri silikonhidrogelnih lečah (12).

ZDRAVLJENJE

Mikrobni keratitis lahko v zgodnjih fazah spominja na sterilne infiltrate, zato ga je treba razlikovati in ustrezno zdraviti (6). V raziskavi Steina in sodelavcev so ugotovili, da so bili pri bolnikih s pozitivnim mikrobiološkim brisom roženice pogosteje prisotni bolečina, vnetna reakcija v sprednjem prekatu, mukozni izcedek in epitelni defekt roženice (9). Svetovali so, da se infiltrati ob prisotnosti teh kliničnih značilnosti obravnavajo kot okužba. Prav tako prisotnost edema roženice okrog infiltrata ali reakcije v sprednjem prekatu, tudi če ni epitelnega defekta nad infiltratom, kaže na okužbo in potrebo po intenzivnem zdravljenju z antibiotiki (6). Tudi periferni infiltrati velikosti 1 mm so lahko infekcijski (6). Donshik s sodelovci je pokazal, da je veliko bolnikov s perifernimi razjedami mikrobiološko pozitivnih in jih je treba zdraviti z antibiotiki (13).

Pri uporabnikih KL lahko infiltrati v obliki obroča predstavljajo diagnostični izziv. Obročast infiltrat, ki je pozni znak AK, se običajno razvije tedne po pričetku simptomov in sta mu običajno pridružena močna bolečina in vnetje (6). V diferencialni diagnozi je treba pomisliti tudi na zlorabo topičnih anestetikov ali na sterilni stromalni obroč, podoben Wesselyjevemu imunskemu obroču, ki nastane v 7–10 dneh kot imunska reakcija na bakterijski endotoksin (6).

Čeprav bi manjše (manj kot 1 mm) periferne infiltrate, ki ne vključujejo vidne osi in se kažejo brez poslabšanja vida, glede na literaturo lahko včasih pričeli zdraviti tudi brez odvzema ustreznih kužnin (postržka roženice) ob siceršnji takojšnji uvedbi intenzivnega zdravljenja s širokospektralnimi topičnimi antibiotiki (6), je pri nosilcih KL potrebna posebna previdnost,

saj lahko manjši infiltrati ob prezentaciji potekajo v fulminantno potekajoč keratitis (npr. *Pseudomonas*) kljub ustrezno izbranemu antibiotičnemu zdravljenju. Zaradi tega je smiselno odvzem kužnin tudi v teh primerih. Za postržek roženice se vedno odločimo, kadar je infiltrat roženice centralno ležeč, velik, globok, atipičen in kroničen (14). Povzročitelje iščemo glede na klinično sliko in dejavnike tveganja (14). Postržek roženice odvajamo pred empirično uvedenimi protimikrobnimi zdravili (14). Za postržek roženice se odločimo tudi, kadar ne dobimo želenega odgovora na empirično uvedeno zdravljenje in ta pred zdravljenjem še ni bil odvzet oziroma je bil negativen (6, 14). Če zdravljenje že poteka, postržek roženice naredimo po 24–48-urni terapevtski pavzi, če s tem ne tvegamo prehudega poslabšanja stanja (14). Ustrezen mikrobiološki vzorec pri mikrobnem keratitisu je postržek (skarifikat) roženice. Rezultati mikrobioloških preiskav kultur poslanih KL in njihovih posodic za shranjevanje lahko v nekaterih primerih podajo dodatne informacije (6), a moramo biti pri interpretaciji rezultatov pazljivi, saj ne omogočajo neposrednega dokaza povzročitelja mikrobnega keratitisa. Konda s sodelovci je opazil, da je bil rezultat kulture KL in postržka roženice isti mikrob v 94 % primerov, medtem ko je bil rezultat kultur posodic za shranjevanje KL in postržka roženice isti organizem le v 77 % primerov (15).

Topikalnim steroidom se je najbolje izogibati kot začetnemu zdravljenju infiltratov pri uporabnikih KL, čeprav so mnenja glede njihove kasnejše uporabe deljena (6).

V randomizirani dvojno slepi in s placebom nadzorovani študiji so analizirali učinek dodanih topičnih kortikosteroidov pri zdravljenju bakterijskih roženičnih razjed (*angl.* The Steroids for Corneal Ulcers Trial, SCUT študija) (16). Ugotovili so, da je adjuvantna uporaba topičnih kortikosteroidov pri zdravljenju bakterijskih roženičnih razjed lahko povezana z boljšim dolgoročnim kliničnim izidom, razen pri okužbah z *Nocardia* spp., pri katerih lahko njihova uporaba poslabša izid (16). Neustrezno zdravljenje zgodnjih infekcijskih infiltratov z lokalnimi kortikosteroidi lahko povzroči resne neželene učinke tudi v primerih, kadar se razvije glivični ali *Acanthamoeba* spp. keratitis (6). Infekcijske roženične infiltrate pri nosilcih KL najpogosteje povzročata bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* in *Staphylococcus aureus*

(6). Infiltrati v sklopu hipoksične okvare roženice in imunskih reakcij na raztopino za leče pogosto izzvenijo brez uporabe kortikosteroidov (6).

BAKTERIJSKI KERATITISI

Schein in Poggio s sodelavci sta že leta 1989 v *New England Journal of Medicine* objavila članek, da je glavni dejavnik tveganja za ulcerativni keratitis podaljšano nošenje KL ponoči (17). Študije so pokazale, da nošenje KL med spanjem poveča tveganje za mikrobní keratitis kar dvajsetkrat (18). Uporaba enodnevnih KL ni spremenila pojavnosti in dejavnikov tveganja za razvoj mikrobnega keratitisa pri nosilcih KL, je pa pomembno zmanjšala morbiditeto, saj se je pomembno zmanjšalo število resnih okužb, ki povzročajo izgubo vida (6, 19). Poleg tega je bilo ugotovljeno, da imajo uporabniki enodnevnih KL večje število negativnih izvidov mikrobioloških kužnin v primerjavi z uporabniki leč za vsakodnevno večkratno uporabo (20).

Klinično se bakterijski keratitis kaže kot hitro napredujoča okužba z močno bolečino, purulentnim infiltratom, hipopionom in mukopurulentnim izcedkom. Glavna dejavnika, ki vplivata na izid zdravljenja okužbe, sta vrsta povzročitelja in pričetek zdravljenja (ali je bil znotraj 12 ur po okužbi) (21, 22). *Pseudomonas aeruginosa* je najpogostejši povzročitelj bakterijskih keratitisev pri nosilcih KL in predstavlja večino primerov izgube vida (6), zato je v teh primerih potrebno urgentno ukrepanje in takojšnje intenzivno antibiotično zdravljenje.

Zdravljenje

Po odvzemu postržka roženice je treba pričeti s čimprejšnjo širokospektralno empirično antibiotično zdravljenje s fluorokinolonom iz 4. generacije (npr. moksifloksacin 5 mg/ml), ki deluje proti *Pseudomonas aeruginosa*.

Glede na rezultate študij (23) je monoterapija s fluorokinolonom 4. generacije dobra alternativa kombiniranemu zdravljenju z ojačanimi (*angl.* fortified) antibiotiki (23), vendar v primeru visokega suma na *Pseudomonas aeruginosa* poleg fluorokinolona 4. generacije dodatno priporočamo predpis 5 % ceftazidima ali 0,3 % tobramicina, če prvi ni na voljo (24). Za ojačano zdravljenje se odločimo tudi, kadar so prisotni veliki infiltrati v vidni

osi ali je prisoten hipopion v sprednjem prekatu. V primeru poslabšanja stanja lahko glede na klinično sliko prilagodimo zdravljenje po antibiogramu (5% ceftazidim, 5% vancomicin, 2,5% amikacin). Če je empirično uvedeno zdravljenje klinično uspešno, ga ne menjamo, četudi je po antibiogramu prisotna *in vitro* rezistenca (6). Treba se je zavedati, da je lahko klinična slika pri gram negativnih bakterijah po 24–48 urah zdravljenja pogosto slabša kljub ustreznemu zdravljenju. Vedno poskušamo izbrati antibiotik z najmanjšo toksičnostjo, praviloma so ojačani antibiotiki bolj toksični (6). Cikloplegike uporabimo ob prisotni eksudaciji v sprednjem prekatu in za preprečevanje nastanka posteriornih sinehij. Kortikosteroide uporabljamo s previdnostjo, in sicer po 24–48 urah po identifikaciji povzročitelja ali odzivu na zdravljenje. Uporabljamo jih za zmanjšanje eksudacije in povnetne fibroze. Odločitev za uporabo kortikosteroidov je individualizirana in prilagojena na klinično sliko in potek zdravljenja. Kortikosteroidov v začetku zdravljenja nikoli ne predpisujemo pri sumu na glive, *Acanthamoeba* spp. ali *Nocardia* (6). Da bi preprečili tanjšanje roženice (keratomalacijo), lahko sistemsko predpišemo tetraciklinski antibiotik (6, 25). V *in vitro* raziskavi so proučevali tudi protivnetni učinek azitromicina (26). Ugotovili so, da azitromicin v kulturi roženičnih epitelnih celic inhibira zimosan stimulirano produkcijo provnetnih citokinov, kot so TNF- α in IL-1 β , kemokini IL-8 in RANTES, in metaloproteinaz-1, -3, in -9 (26). Azitromicin v koncentraciji 0,1 % je tudi zmanjšal hemolitično aktivnost *S. aureus* v zajčjem modelu bakterijskega keratitisa (27).

GLIVIČNI KERATITISI

Glivični keratitis je redkejši, vendar lahko povzroči dolgotrajne in težko ozdravljive okužbe. Klinično se prezentira kot subakutno napredujoča okužba roženice z infiltrati s pernatimi robovi, satelitskimi lezijami in v nekaterih primerih s hipopionom (28). Najpogostejši povzročitelji glivičnih keratitisev pri nosilcih KL so *Fusarium*, *Aspergillus* in *Candida* (29). Dejavniki tveganja vključujejo uporabo KL v vlažnih podnebnih, mikrotravme roženice ter dolgotrajno uporabo KL brez ustrezne higijene (6). Do nedavnega so poškodbe roženice z organskim materialom predstavljale največje tveganje za razvoj glivičnega keratitisa, ki ga povzročajo nitasti

organizmi, kot je *Fusarium* (29). Iyer s sodelavci je v raziskavi s Floride ugotovil, da je bila uporaba KL najpogostejši dejavnik tveganja za glivični keratitis, kar je predstavljalo 52 % primerov v primerjavi z 29 % primerov, povezanih s poškodbo (6). V Miamiu se je pri razjedah roženice, povezanih s KL, odstotek glivičnega keratitisa podvojil zlasti zaradi *Fusarium*. Tako je nošnja KL lahko neodvisen dejavnik tveganja za razvoj glivičnega keratitisa (30). Tudi v drugih centrih po Združenih državah Amerike so v zadnjih 20 letih poročali o skoraj sedemkratnem porastu *Fusarium* keratitisa pri nosilcih mehkih KL (31), pri 40 % je bila potrebna terapevtska keratoplastika za nadzor okužbe (31).

Zdravljenje

Pri atipičnih in nejasnih mikrobnih okužbah roženice je potreben čimprejšnji postržek roženice, ki ga inokuliramo v transportno gojišče (redkeje neposredno na trdno bakteriološko ali mikološko) za izolacijo in kultivacijo bakterijskih povzročiteljev in gliv, redkeje za dokazovanje patogenov z molekularnimi metodami (14). Začetni odziv na topične antibiotike ne izključuje glivične etiologije, zlasti v atipičnih prezentacijah ter anamnezi, ki je sumljiva za glivično okužbo (32). Kadar sumimo na glivično okužbo roženice, se je pri začetnem zdravljenju vedno treba izogibati uporabi lokalnih kortikosteroidov.

Zdravljenje prvega izbora pri okužbah s kvasovkami je predpis topičnega 0,15% amfotericina, še posebej pri okužbi s *Candida albicans*. Kot zdravljenje drugega izbora je predpis topičnega 1% vorikonazola. Pri filamentnih povzročiteljih (*Fusarium* spp) je zdravilo prvega izbora 5% natamicin. Pri hudih okužbah lahko dodamo še 0,2% klorheksidin. Pri lezijah, ki se širijo v sprednji prekat ali na beločnico, lahko dodatno uvedemo še sistemsko protiglivično zdravljenje (npr. vorikonazol per os). V teh primerih lahko glede na izolat intrakameralno injiciramo tudi 50 do 100 mikrogramov vorikonazola v 0,1 mL ali 5 mikrogramov amfotericina v 0,1 mL. Aplikacija topičnega zdravljenja je najprej na vsako uro dan in noč za 48 ur, nato na 1 uro preko dneva, dokler se ne pokažejo znaki celjenja roženične razjede. Zdravljenje je dolgotrajno (več tednov), 4-krat dnevno vsaj še 4 tedne po zacelitvi razjede (24).

AKANTAMEBNI KERATITIS

Acanthamoeba spp. so ubikvitarne praživali, ki jih najdemo v zemlji in sladki vodi. Obstajajo v dveh razvojnih fazah: kot mirujoče ciste ali gibljivi trofozoiti. Nošnja mehkih KL predstavlja glavni dejavnik tveganja za AK, vendar se lahko pojavi tudi pri nosilcih poltrdih KL, zlasti v ortookeratologiji (33). Ključna je izpostavljenost KL ali posodic za shranjevanje KL vodi (34–36). V nedavni študiji so dokazali, da je tveganje za AK vsaj 3-krat večje pri nošnji KL za večkratno uporabo, kot pri nosilcih enodnevnih KL (4). Zgodnji znaki AK so nespecifični, lahko pa vključujejo epitelni keratitis (epitelitis), psevdodendritiformne epitelijske spremembe, radialni keratoneuritis in močno bolečino, ki ni sorazmerna glede na očesni status (6). Pozna znaka okužbe sta pojav obročastega infiltrata in globok stromalni keratitis, kar nakazuje slabo napoved za vid (37). AK se lahko zamenja za herpetični stromalni keratitis zaradi nespecifičnih epitelnih sprememb, ki spominja na prisotnost psevdodendritov roženice, vendar je v tem primeru bolečina relativno blaga in se keratitis ponavadi dobro odzove na protivirusno zdravljenje (6). Tako je treba posumiti na okužbo roženice z akantamebo pri vsakem nosilcu KL, ki ima epitelne spremembe, povezane z močno bolečino in oteklino zgornje veke, ali okužbe, ki se ne odzivajo na zdravljenje z vlaženjem, protivirusnimi zdravili, antibiotiki in steroidi (6).

Zdravljenje

Ob sumu na AK vzamemo postržek roženice, ki ga inokuliramo v epruveto s sterilno fiziološko raztopino za molekularni dokaz dednega materiala *Acanthamoeba* spp ali naredimo razmaz neposredno na predhodno pripravljena gojišča PAGE z *E. coli* za kultivacijo (14). Zdravljenje vključuje uporabo bigvanidov (0,02% poliheksametilen bigvanid (PHMB) ali 0,02% klorheksidin), ki učinkujejo proti cistam in trofozoitom, lahko v kombinaciji z diamidini (propamidin) (6), kortikosteroidi pa se uporabljajo previdno in le v določenih fazah zdravljenja (6).

ZAKLJUČEK

Pri nosilcih KL je mikrobní keratitis najresnejši zaplet. Preventiva je izjemnega pomena.

Izobraževanje bolnikov o pravilni uporabi KL je ključnega pomena pri preprečevanju okužb. Svetujemo uporabo dnevniñ KL, kadar je to mogoče, izogibanje spanju s KL in izogibanje stiku KL z vodo. Kadar uporaba dnevniñ KL ni mogoča, mora higiena vključevati redno čiščenje KL in menjavo tekočine ter posodic za shranjevanje leč, ki se ne smejo čistiti z vodo iz pip. Ključnega pomena je tudi zgodnje prepoznavanje simptomov, kot so bolečina, rdečina in slabši vid, saj pravočasno zdravljenje preprečuje zaplete. Zgodnja diagnoza, agresivno zdravljenje in ozaveščanje bolnikov so ključni za uspešno obvladovanje teh okužb.

LITERATURA

1. Hatami H, Ghaffari Jolfayi A, Ebrahimi A, Golmohammadi S, Zangiabadian M, Nasiri MJ. Contact Lens Associated Bacterial Keratitis: Common Organisms, Antibiotic Therapy, and Global Resistance Trends: A Systematic Review. *Front Ophthalmol (Lausanne)*. 2021;1:759271.
2. Dostopno na: <https://www.fda.gov/medical-devices/contact-lenses/types-contact-lenses> (28. 2. 2025)
3. Cope JR, Collier SA, Nethercut H, Jones JM, Yates K, Yoder JS. Risk Behaviors for Contact Lens-Related Eye Infections Among Adults and Adolescents - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2017;66(32):841–5.
4. Carnt N, Minassian DC, Dart JKG. Acanthamoeba Keratitis Risk Factors for Daily Wear Contact Lens Users: A Case-Control Study. *Ophthalmology*. 2023;130(1):48–55.
5. Stapleton F, Carnt N. Contact lens-related microbial keratitis: how have epidemiology and genetics helped us with pathogenesis and prophylaxis. *Eye (Lond)*. 2012;26(2):185–93.
6. Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea*. (5th Edition). [Canada]: Elsevier - OHCE; 2021. p. 1067–78.
7. Stapleton F, Naduvilath T, Keay L, Radford C, Dart J, Edwards K, et al. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis in daily disposable contact lens wear. *PLoS ONE*. 2017;12(8):e0181343.
8. Suresh L, Hammoudeh Y, Ho CS, Ong ZZ, Cairns J, Gopal BP, et al. Clinical features, risk factors and outcomes of contact lens-related bacterial keratitis in Nottingham, UK: a 7-year study. *Eye (Lond)*. 2024;38(18):3459–3466.

9. Watt KG, Swarbrick HA. Trends in microbial keratitis associated with orthokeratology. *Eye Contact Lens*. 2007;33(6 Pt 2):373–7 discussion 382.
10. Chalmers RL, McNally JJ, Schein OD, Katz J, Tielsch JM, Alfonso E, et al. Risk factors for corneal infiltrates with continuous wear of contact lenses. *Optom Vis Sci*. 2007;84(7):573–9.
11. Willcox M, Sharma S, Naduvilath TJ, Sankaridurg PR, Gopinathan U, Holden BA. External ocular surface and lens microbiota in contact lens wearers with corneal infiltrates during extended wear of hydrogel lenses. *Eye Contact Lens*. 2011;37(2):90–5.
12. Grant T, Chong MS, Vajdic C, Swarbrick HA, Gauthier C, Sweeney DF, et al. Contact lens induced peripheral ulcers during hydrogel contact lens wear. *CLAO J*. 1998;24(3):145–51.
13. Donshik PC, Suchecki JK, Ehlers WH. Peripheral corneal infiltrates associated with contact lens wear. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1995;93:49–64.
14. Schollmayer P, Velimirović I, Matović K, Triglav T, Lumi X, Vidović Valentinčič N, idr. Odvzem kužnin pri okužbah v oftalmologiji = Collection of specimens in ophthalmologic infections. V Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD; 2024. str. 49–56. Dostopno na: https://imi.si/wp-content/uploads/2024/06/Likar-10_Odvzem-in-transport-vzorcev_2021-1.pdf
15. Konda N, Motukupally SR, Garg P, Sharma S, Ali MH, Willcox MD. Microbial analyses of contact lens-associated microbial keratitis. *Optom Vis Sci*. 2014;91(1):47–53.
16. Srinivasan M, Mascarenhas J, Rajaraman R, Ravindran M, Lalitha P, O'Brien KS, et al. Steroids for Corneal Ulcers Trial Group. The steroids for corneal ulcers trial (SCUT): secondary 12-month clinical outcomes of a randomized controlled trial. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(2):327–33.e3.
17. Poggio EC, Glynn RJ, Schein OD, Seddon JM, Shannon MJ, Scardino VA, et al. The incidence of ulcerative keratitis among users of daily-wear and extended-wear soft contact lenses. *N Engl J Med*. 1989;321(12):779–83.
18. Zaidi T, Mowrey-McKee M, Pier G.B. Hypoxia increases corneal cell expression of CFTR leading to increased *Pseudomonas aeruginosa* binding, internalization, and initiation of inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4066–74.
19. Dart JK, Radford CF, Minassian D, Verma S, Stapleton F. Risk factors for microbial keratitis with contemporary contact lenses: a case-control study. *Ophthalmology*. 2008 Oct;115(10):1647–54, 1654.e1–3.
20. Stapleton F, Naduvilath T, Keay J, et al. Risk factors for microbial keratitis in daily disposable contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(5):1305.
21. Keay L, Edwards K, Naduvilath T, Radford CF, Dart JK, Edwards K, et al. Factors affecting the morbidity of contact lens-related microbial keratitis: a population study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(10):4302–4308. PMID: 17003419
22. Stapleton F, Keay LJ, Sanfilippo PG, Katiyar S, Edwards KP, Naduvilath T. Relationship between climate, disease severity, and causative organism for contact lens-associated microbial keratitis in Australia. *Am J Ophthalmol*. 2007 Nov;144(5):690–698.
23. Wong RL, Gangwani RA, Yu LW, Lai JS. New treatments for bacterial keratitis. *J Ophthalmol*. 2012;2012:831502.

24. Moorfields eye hospital. Dostopno na <https://app.eolasmedical.com/documents/viewer/SEC%235cb3d85f-33af-42d9-a6d6-a63ac89a5baf/eolas-editor/FILE%23e0156e83-3e3f-49f7-a42c-b76bbe7f0c9?shouldShowBreadcrumbs=true&shouldShowAdminOptions=true> (28. 2. 2025).
25. Levy JH, Katz HR. Effect of systemic tetracycline on progression of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in the rabbit. *Ann Ophthalmol*. 1990;22(5):179–83.
26. Li DQ, Zhou N, Zhang L, Ma P, Pflugfelder SC. Suppressive effects of azithromycin on zymosan-induced production of proinflammatory mediators by human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(11):5623–9.
27. Ikemoto K, Kobayashi S, Haranosono Y, Kozai S, Wada T, Tokushige H, et al. Contribution of anti-inflammatory and anti-virulence effects of azithromycin in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis. *BMC Ophthalmol*. 2020;20(1):89.
28. Thomas P, Kalamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:210–20.
29. Iyer SA, Tuli SS, Wagoner RC. Fungal keratitis: emerging trends and treatment outcomes. *Eye Contact Lens*. 2006;32(6):267–71.
30. Alfonso EC, Cantu-Dibildox J, Munir WM, Miller D, O'Brien TP, Karp CL, Yoo SH, Forster RK, Culbertson WW, Donaldson K, Rodila J, Lee Y. Insurgence of *Fusarium* keratitis associated with contact lens wear. *Arch Ophthalmol*. 2006;124(7):941–7.
31. Gorscak JJ, Ayres BD, Bhagat N, Hammersmith KM, Rapuano CJ, Cohen EJ, et al. An outbreak of *Fusarium* keratitis associated with contact lens use in the northeastern United States. *Cornea*. 2007;26(10):1187–94.
32. Munir WM, Rosenfeld SI, Udell I, Miller D, Karp CL, Alfonso EC. Clinical response of contact lens-associated fungal keratitis to topical fluoroquinolone therapy. *Cornea*. 2007 Jun;26(5):621–4.
33. Sun X, Zhang Y, Li R, Wang Z, Luo S, Gao M, Deng S, Chen W, Jin X. *Acanthamoeba* keratitis: clinical characteristics and management. *Ophthalmology*. 2006 Mar;113(3):412–6.
34. Boost M, Cho P, Lai S. Detection of *Acanthamoeba* in tap water and contact lens cases using polymerase chain reaction. *Optom Vis Sci*. 2008;85:526–30.
35. Jeong HJ, Yu HS. The role of domestic tap water in *Acanthamoeba* contamination in contact lens storage cases in Korea. *Korean J Parasitol*. 2005;43:47–50.
36. Kilvington S, Gray T, Dart J, Morlet N, Beeching JR, Frazer DG, et al. *Acanthamoeba* keratitis: the role of domestic tap water contamination in the United Kingdom. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(1):165–9.
37. Tu EY, Joslin CE, Sugar J, Shoff ME, Booton GC. Prognostic factors affecting visual outcome in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*. 2008;115(11):1998–2003.

TEŽKO POTEKAJOČE OKUŽBE ROŽENICE

Petra Schollmayer¹, Luka Lapajne¹, Zala Lužnik Marzidovšek¹

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

IZVLEČEK

Težko potekajoče okužbe roženice so redke, vendar pomembne zaradi pogostih resnih zapletov, ki dolgotrajno okvarijo vid in ogrožajo integriteto očesa ter obočesnih struktur. So najpogostejši vzrok roženične perforacije, ki je urgentno stanje zaradi tveganja za znotraj očesno okužbo, serozni ali hemoragični odstop žilnice, perifernih anteriornih sinehij in glavkom. Težek potek je posledica bodisi zelo agresivnih ali na zdravljenje slabo občutljivih povzročiteljev bodisi stanja očesne površine, zaradi katerega je celjenje upočasnjeno. Tako stanje je najpogosteje bolezen suhega očesa ali nevrotrofično stanje zaradi herpetične očesne bolezni. V diagnostiki je poleg identifikacije povzročitelja zato pomembna ocena očesne površine, pri kateri si pri enostranski prizadetosti pomagamo z oceno zdravega očesa. Zdravljenje je usmerjeno v preprečevanje širjenja okužbe in preprečevanje perforacije. Razdelimo ga na 3 faze: (A) obvladovanje okužbe, (B) pospešitev celjenja in (C) zdravljenje zapletov. Zelo majhne roženične perforacije se pogosto ob ustreznem lokalnem in sistemskem zdravljenju ter vstavitvi terapevtske kontaktne leče (TKL) zaprejo spontano, medtem ko je večje perforacije treba oskrbeti kirurško. V poštev pride lepljenje s cianoakrilatnim lepilom, kritje z amnijsko membrano (AM), oblični presadek roženice (*angl.* patch graft), lamelarna ali penetrantna tektonska terapevtska presaditev roženice ali kritje z veznico. V primeru nenadzorovane okužbe je terapevtska presaditev roženice potrebna za odstranitev okuženega ali nekrotičnega tkiva. Primarni namen kirurške oskrbe perforacije je ohranitev strukturne integritete zrkla, medtem ko je vidna rehabilitacija sekundarnega pomena. Vnetje negativno vpliva na preživetje presadka, zato je smiselno opraviti presaditev roženice, ko je vnetje čim bolj umirjeno in so ustvarjeni pogoji za rehabilitacijo vida.

Ključne besede: roženična okužba, keratitis, perforacija roženice, amnijska membrana, terapevtska presaditev roženice

UVOD

Okužba roženice je najpogostejši vzrok roženičnih perforacij, in sicer med 24 % in 55 % (1–6). Povzročitelji so najpogosteje bakterije (7, 8), pogosto pa tudi virusi, glive in akantameba. Pri vseh perforacijah sta prisotna epitelni defekt, ki se ne celi, in proces keratolize. Do keratolize pride zaradi kompleksnega mehanizma, ki je povezan tako z neposrednim delovanjem mikrobnih proteaz, kot tudi vnetnega odgovora in posledične aktivacije matriksmetaloproteinaz. Vsem procesom je skupno, da vodijo v hidrolizacijo (topljenje) kolagenskih vlaken v roženični stromi, kar povzroči razgradnjo roženične strome, in v izbočenje membrane Descemetove (descemetokela), čemur lahko sledi perforacija (9). Večina bakterijskih okužb se sicer dobro odzove na protimikrobno zdravljenje (10), perforacija pa nastane zaradi poznega in premalo intenzivnega začetnega zdravljenja (11) ali zaradi neustreznega zdravljenja v fazi celjenja, ko je okužba že obvladana. Glivne in akantamebne okužbe so zahtevnejše za zdravljenje kot bakterijske (12, 13). V primerjavi z bakterijskimi okužbami je klinični potek počasnejši, zato so diagnosticirane pozno. Z zdravljenjem večinoma začnemo, ko se okužba že razširi v globoko stromo in je težje obvladljiva, saj so povzročitelji težje dostopni za protimikrobna zdravila. Najbolj agresivna oblika herpetičnega keratitisa je stromalni nekrotični keratitis, povzročen z virusom herpes simpleks (HSV). Do perforacije pride zaradi napredovale nekroze v akutni fazi in nevrotrofičnega stanja, zaradi katerega je upočasnjeno celjenje. Ne glede na vrsto okužbe je epitelizacija po obvladanju okužbe upočasnjena pri suhem očesu, zaradi toksičnosti lokalnega zdravljenja (14) in pri nevrotrofičnem stanju, npr. po očesnih operacijah. V prispevku podrobneje obravnavamo dejavnike tveganja za težji potek in perforacijo, terminologijo, principe zdravljenja, medikamentozno in kirurško preprečevanje ter zdravljenje perforacij.

TERMINOLOGIJA

Roženična razjeda (ulkus)

Pri roženični razjedi je vedno prisoten epitelni defekt z vsaj delno izgubo strome, ki je pogosto infiltrirana ali nekrotična.

Descemetokela

Descemetokela je razjeda, katere dno tvorita le Descemetova membrana in endotel in je povsem prozorna (slika 1). Ker je Descemetova membrana elastična, se zaradi očesnega tlaka boči naprej in ima značilno polkrožno obliko. Predstavlja visoko tveganje za perforacijo.



Slika 1: Descemetokela pri nekrotičnem stromalnem keratitisu (HSV), roženica je krita s TKL.

Epitelizirana descemetokela

Epitelizirana descemetokela predstavlja precej manjše tveganje za perforacijo kot descemetokela (slika 2).



Slika 2: OCT roženice, epitelizirane descemetokele.

Perforacija roženice

Pri perforaciji roženice obstaja povezava med površino očesa in notranjostjo očesa, Seidlov test je pozitiven, sprednji prekat je pogosto splitven ali ukinjen.

Puščajoča descemetokela

Puščajoča descemetokea je epitelizirana ali prava descemetokela z drobno perforacijo, ki se občasno zapre in ob višjem očesnem tlaku odpre.

DEJAVNIKI TVEGANJA ZA TEŽJI POTEK IN PERFORACIJO

Zelo agresivni povzročitelji

Pseudomonas aeruginosa

Med bakterijskimi keratitisi je najpogostejša in najhitrejša perforacija pri okužbi s *Pseudomonas aeruginosa*, pri kateri zaradi izločanja pseudomonasnih kolagenaz lahko pride do perforacije že v 24–48 urah (slika 3).



Slika 3: Keratitis, povzročen s *Pseudomonas aeruginosa*, z obsežno keratomalacijo že 5. dan po začetku simptomov pri nosilcu mehkih kontaktnih leč.

Na okužbo s pseudomonasom je treba pomisliti pri nenadnih in hitro napredujočih simptomih in znakih keratitisa pri nosilcih kontaktnih leč, saj je pri njih *Pseudomonas aeruginosa* povzročitelj keratitisa v 2/3 primerov. Ker je izredno virulenten, je treba čim prej pričeti z intenzivnim lokalnim zdravljenjem. Kadar je mogoče, odvezamo postržek roženice, a z začetkom zdravljenja ne smemo odlašati. Po priporočilih pričnemo zdraviti s fluorokinolonom (pri nas je na razpolago moksifloksacin, 0,5%, ali ciprofloksacin, 0,3%), ki ga v primeru močnega suma na pseudomonasno okužbo kombiniramo z ojačanim 5-odstotnim ceftazidimom ali v primeru nerazpoložljivosti ojačanih antibiotikov z 0,3-odstotnim tobramicinom (Tobrex). Za zdravljenje keratitisa pri nosilcih kontaktnih leč odsvetujemo uporabo kloramfenikola (15).

Tabela 1: Priporočila za pogostost aplikacije kapljic pri zdravljenju bakterijskega keratitisa (16).

Začetna antibiotična obremenitev	48 ur	3 dni	do zacetitve
vsakih 5–15 min, 2 uri	vsako uro, dan in noč	vsako uro, podnevi	4-krat dnevno

HSV: stromalni nekrotični keratitis

Perforacija pri HSV je posledica neposrednega vdora in replikacije virusa v roženični stromi pri nekrotičnem keratitisu in/ali vztrajajočega defekta epitela in keratomalacije zaradi zmanjšane občutljivosti roženice in nevrotrofičnega stanja (slika 4) (6, 17). Za herpetično očesno bolezen so značilne ponovitve. Rekurentni keratitis HSV je značilno enostranski in se pojavi obojestransko le v 3 % (18), od tega v 40 % pri atopikih in pogosteje pri mlajših bolnikih (19). Pri stromalni in endotelni obliki svetujemo dolgotrajno sistemsko zaščito z virostatikom: aciklovir, 400 mg, 2-krat dnevno, valaciklovir, 500 mg, 1-krat dnevno, ali famciklovir, 250 mg, 2-krat dnevno (20).



Slika 4: Perforacija nekrotičnega stromalnega keratitisa (HSV) z inkracercijo šarenice in z ukinjenim sprednjim prekatom.

Na zdravljenje slabo občutljivi povzročitelji

Akantameba

Na okužbo moramo vedno pomisliti pri nosilcih kontaktnih leč, pri katerih se težave začnejo počasi, v klinični sliki pa so na začetku prisotne nespecifične spremembe epitela: punktatna epitelopatija, psevdodendriti, epitelni in subepitelni infiltrati. Šele kasneje se pojavita patognomonični radiarni perinevritis in obročast infiltrat. Pri takih bolnikih je vedno treba odvzeti postržek roženice, saj je diagnoza uspešnejša pri epitelni fazi bolezni, pomaga pa nam lahko tudi *in vivo* konfokalna mikroskopija. Zdravljenje poteka več mesecev ali let (21).

Glive

Na glivično okužno vedno pomislimo pri počasi razvijajočem se keratitisu, ki ne reagira na zdravljenje z antibiotiki. Za razliko od dežel v razvoju, kjer je najpogostejši dejavnik tveganja poškodba z organskim materialom, so v razvitem svetu najpogostejši dejavniki tveganja kortikosteroidno zdravljenje, bolezen očesne površine, manjše poškodbe in kontaktne leče (22, 23). Glive lahko prehajajo skozi intaktno Descemetovo membrano v sprednji prekat in globlje intraokularne strukture. Filamentne glive se lahko širijo tudi na sklero (24–26).

Drugi dejavniki za težek potek

Nevrotrofično stanje

Nevrotrofično stanje je najpogostejše po okužbi s HSV ali VZV, po očesni operaciji ali zaradi drugih redkejših vzrokov, kot so refraktivne operacije, kontaktne leče, sladkorna bolezen, določena sistemska zdravila in poškodbe oz. okvare trigeminalnega živca.

Bolezen očesne površine

Najpogosteje se pojavlja suho oko.

Ekspozicijski keratitis

Vzroki za ekspozicijski keratitis so pareza obraznega živca, ektropij/entropij in ščitnična orbitopatija.

PRINCIPI ZDRAVLJENJA

Obvladovanje okužbe

Intenzivno topično zdravljenje (kapljice vsako uro ali dve) je pri bakterijskih okužbah indicirano redko več kot 5 dni, pri okužbi s *Candida spp.* 14 dni, medtem ko je intenzivno zdravljenje pri filamentnih glivah in akantamebi mnogo daljše.

Pomembno vlogo pri zdravljenju ima tudi inhibicija matriksmetaloproteinaz z doksiciklinom. Raziskuje se tudi učinek azitromicina zaradi njegovih protivnetnih in imunomodulatornih učinkov, vključno z zaviranjem matriksmetaloproteinaz, zaviranjem izločanja bakterijskih toksinov in gradnje biofilma (27–29).

Tabela 2: Protokoli zdravljenja (13, 16, 30).

Etiologija	Topično protimikrobno zdravljenje			
bakterije	2 dni, vsako uro, dan in noč	3 dni, vsako uro, podnevi	4-krat dnevno do zacetitve	
glive (kvasovke)	2 dni, vsako uro, dan in noč	vsako uro, podnevi, dokler se razjeda ne prične celiti	postopno, nižanje zdravljenja do zacetitve epitela	po zacetitvi epitela vsaj še 4 tedne, 4-krat dnevno
akantameba	16-krat dnevno 5 dni, 8-krat dnevno 7 dni, 6-krat dnevno 7 dni			4-krat dnevno do zacetitve ali ponovitve

Pospeševanje celjenja

Po intenzivnem protimikrobnem zdravljenju nastopi faza celjenja, pri kateri upoštevamo:

- zmanjšanje toksičnosti zdravljenja,
- vlaženje očesne površine,
- uporabo kapljic brez konzervansov,
- inhibicijo matriksmetaloproteinaz z doksiciklinom.

Ukrepi pri vztrajajočem epitelnem defektu so stopenjski:

- kapljice avtolognega seruma,
- delna ali popolna začasna tarzorafija,
- kritje z amnijsko membrano.

Pri oceni očesne površine in prognozi celjenja upoštevamo stanje očesne površine zdravega očesa. Pri tem je treba na zdravem očesu narediti osnovno diagnostiko: ocena stanja vek in meibomovih žlez, višina solznega meniskusa, Schirmerjev test in barvanje očesne površine.

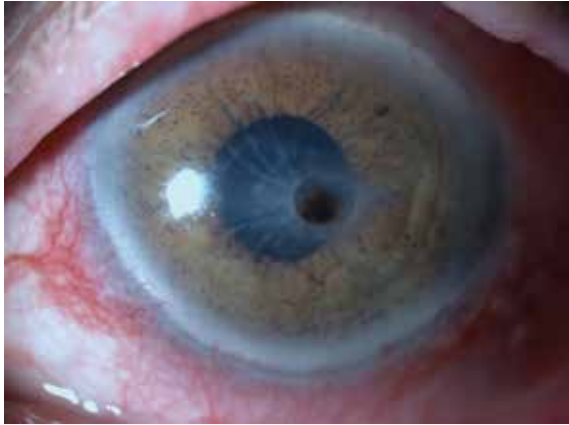
Oskrba zapletov

V primeru perforacije roženice ali širjenja okužbe v notranjost očesa, na beločnico ali orbito je potrebno ustrezno farmakološko in kirurško zdravljenje.

SIMPTOMI IN ZNAKI PERFORACIJE

Perforacijo prepoznamo po naslednjih simptomih in znakih (slika 5):

- nenadno poslabšanje vida z bolečino,
- nenadno prekomerno solzenje,
- hipotonija,
- splitven ali ukinjen sprednji prekat,
- pozitiven Seidelov test,
- inkarceracija šarenice v perforacijo,
- zelo prozorno področje v centru obsežnega abscesa roženice,
- nenadno zmanjšanje hipopiona.



Slika 5: Perforacija roženice z ostanki inkarcerirane šarenice in značilnimi radiarnimi gubami.

OSKRBA PRED OPERACIJO

Pri grozeči perforaciji se poslužujemo tako sistemskega kot topičnega zdravljenja, da zmanjšamo verjetnost intraokularnega širjenja. Ob perforaciji lahko nadaljujemo s topičnim zdravljenjem ob upoštevanju možnega tveganja za nastanek roženične ali mrežnične toksičnosti in uvedemo sistemski antibiotik moksifloksacin (6).

OSKRBA PERFORACIJ ROŽENICE

Perforacija roženice mora biti oskrbljena v roku 24–48 ur, če je sprednji prekat splitven ali ukinjen, da preprečimo odstop žilnice zaradi hipotonije ter trajne periferne anteriorne sinehije. Perforacijo poskusimo zapreti s čim manj invazivnimi ukrepi, saj je vsak večji poseg pri vnetem očesu tvegan, še posebej, če infekcija ni obvladana.

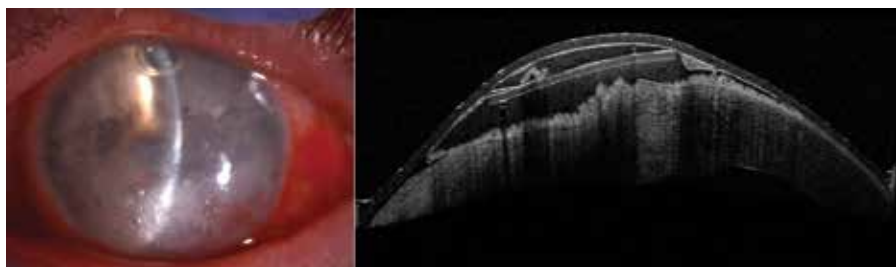
Terapevtska kontaktna leča

Ob ustreznem lokalnem in sistemskem zdravljenju se zelo majhne roženične perforacije lahko zaprejo sponatno po vstavitvi terapevtske kontaktne leče.

Kontaktna leča tudi omogoča boljšo preglednost, kot je po lepljenju ali presaditvi AM.

Lepilo

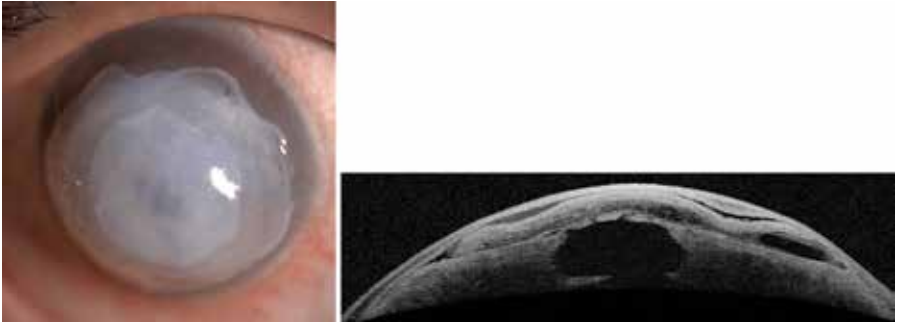
Lepljenje roženice je večinoma začasen ukrep za ohranitev integritete očesa, ko okužba še ni obvladana in je oko še vneto. Z lepljenjem lahko odložimo dokončno kirurško oskrbo na bolj optimalen čas, ko je okužba obvladana in vnetje umirjeno. Tako ima kasnje presadek več možnosti za preživetje. Perforacije lepimo s cianoakrilatnim lepilom (slika 6), ki se v svetu uporablja od leta 1960 (31). Lepilo nanesimo na povsem posušeno in deepitelizirano dno razjede. Poseg se lahko naredi tudi na špranjki. Lepilo odpade, ko se razjeda pod lepilom epitelizira.



Slika 6: Cianoakrilatno lepilo, fotografija (A) in OCT (B).

Amnijska membrana

Manjše perforacije lahko zapremo z večimi sloji amnijske membrane, ki jih prišijemo, lahko pa tudi prilepimo na roženico s fibrinskim lepilom (slika 7). S terapevtsko kontaktno lečo preprečimo, da bi amnijska membrana prehitro odpadla. Roženica se ponavadi epitelizira pod zgornjimi plastmi AM, medtem ko lahko notranje plasti ostanejo pod novonastalim epitelom dlje časa in s tem dodatno stabilizirajo roženico.



Slika 7: Fotografija (levo) in OCT (desno) tektonskega kritja perforacije roženice z več plastmi amnijske membrane ter zaščita s terapevtsko kontaktno lečo. Pod AM vidna cistično spremenjena in edematozna roženica ter vzpostavljen sprednji prekat.

Obližni presadek (angl. patch graft)

Obližni presadek (slika 8) se uporablja za manjše periferne ali centralne perforacije ter za preprečevanje perforacij pri descemetokelah. Lahko je začasen ali trajen, lamelaren ali penetranten. Obližni presadek je primeren za perforacije, ki so prevelike za lepljenje, hkrati pa dovolj majhne, da se lahko izognemo večjemu presadku, pri katerem v urgentni situaciji obstaja večja možnost zapletov zaradi odprtega očesa, preživetje pa je slabše.



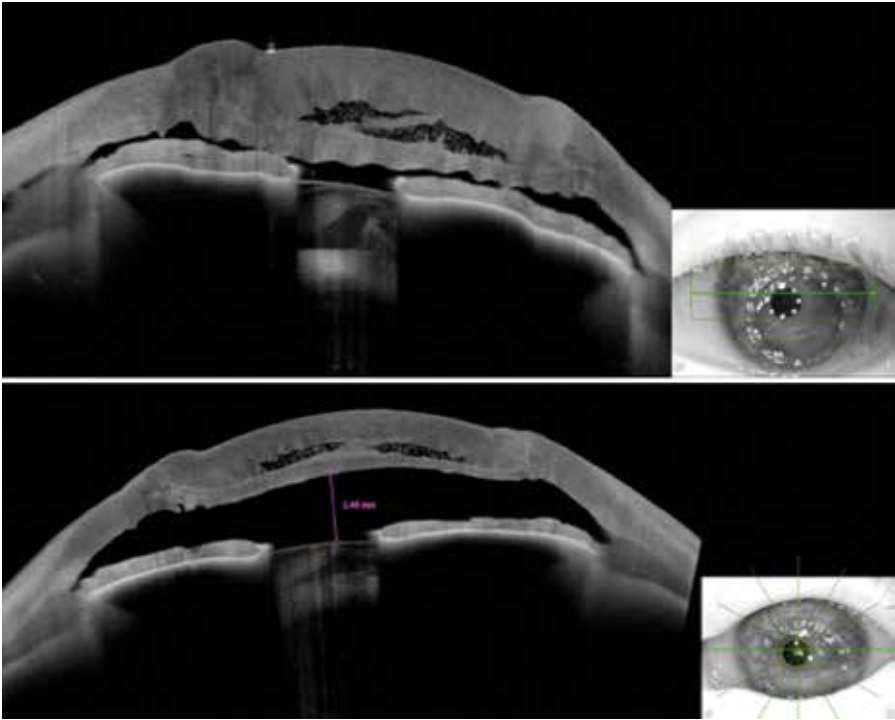
Slika 8: Descemetokela po operaciji pterigija (A), obližni presadek, star nekaj dni (B) in 6 mesecev po operaciji (C).

Terapevtska presaditev roženice

Namen terapevtske presaditve roženice je ohranitev integritete zrkla ali odstranitev okuženega in nekrotičnega tkiva (32). Za razliko od optične presaditve roženice, katere namen je izboljšanje vida, je vidna rehabilitacija pri terapevtski presaditvi sekundarnega pomena.

Tektonska presaditev roženice

Tektonska presaditev roženice je urgenten poseg za ohranitev integritete zrkla (slika 9). Zanj se odločimo pri večjih perforacijah, ki jih ni mogoče zapreti z manj invazivnim posegom. Lahko je penetrantna ali lamelarna. Če je okužba obvladana, je bolj varna lamelarna presaditev. Anteriorna lamelarna keratoplastika lahko izboljša vid brez določenih tveganj, povezanih s penetrantno keratoplastiko. Manjše je tveganje zavrnitvene reakcije, manjši sta izguba endotelne celice in potreba po pooperativnem steroidnem zdravljenju. Prav tako je manjše tveganje hudih intraoperativnih zapletov (8, 32, 33).



Slika 9: Lamelarna tektonska presaditev roženice pri perforaciji roženice (nekrotični stromalni keratitis, HSV), zaradi katere je prišlo do odstopa žilnice.

Penetrantna presaditev bi bila pri odstopu žilnice tvegana, vzpostavitev sprednjega prekata ne bi bila mogoča, zato je predvidena kasneje v bolj stabilnih pogojih.

A: Plitev sprednji prekat 1. dan po tektonski presaditvi.

B: Poglobljen prekat po regresiji odstopa žilnice 6. dan po posegu.

Topično pooperativno kortikosteroidno zdravljenje je izrednega pomena tako s stališča preprečevanja zavrnitvene reakcije kot tudi zaradi zmanjševanja pooperativnega vnetja. Kortikosteroidno zdravljenje ni priporočljivo pri zdravljenju glivičnega keratitisa, saj lahko vodi v poslabšanje primarne okužbe ali ponovnega pojava glivične okužbe. V teh primerih

uporabljamo kapljice 0,5% ciklosporina A, ki je dokazano ustrezna alternativa pri glivičnih okužbah (34).

Terapevtska presaditev roženice za odstranitev okuženega in nekrotičnega tkiva

S terapevtsko presaditvijo roženice odstranimo nekrotično in okuženo tkivo popolnoma ali v tolikšnem obsegu, da so protimikrobno zdravljenje in endogeni obrambni mehanizmi učinkoviti. Prognoza terapevtskega presadka je zelo odvisna od:

- **Prisotnosti vnetja** ob presaditvi, ki pomeni večje tveganje za vaskularizacijo presadka, zavrnitveno reakcijo, periferne anteriorne sinehije, glavkom in keratomalacijo presadka. Zato je kljub temu, da je na prvem mestu obvladovanje okužbe, pomembno, da je oko ob operaciji čim manj vneto. Ob obvladani okužbi lahko vnetje umirimo z lokalnimi kortikosteroidi.
- **Velikosti presadka**: Presadki z večjim premerom kot 9–9,5 mm imajo pomembno krajše preživetje. Večji presadki so bližje limbusu, kar poveča tveganje za zavrnitev, periferne anteriorne sinehije in glavkom.

Terapevtska presaditev roženice za odstranitev okuženega in nekrotičnega tkiva je najuspešnejša pri bakterijskih okužbah (slika 10). Pomembno vlogo ima tudi pri glivičnih okužbah, pri katerih se okužba povrne v 3,5 % (22) do 50 % (7). Rezultati terapevtske presaditve pri okužbi z akantamebo so slabši s ponovitvijo okužbe v 50 % (33). V študiji, ki je obravnavala 32 bolnikov, je bil glavkom najpogostejši zaplet terapevtske keratoplastike zaradi akantamebnega keratitisa, pri več kot polovici je prišlo tudi do odpovedi presadka in razširjene, nereaktivne zenice (35). Presadek pri terapevtski presaditvi ostane prozoren med 29 % in 92 %, vendar je po podatkih Sharpe s sod. iz leta 2014 končna najboljša korigirana vidna ostrina boljša od 0,1 le pri 18,5 % bakterijskih in 5,7 % glivičnih infekcij. Najboljša končna korigirana vidna ostrina pri bolnikih z akantamebno okužbo le redko presega 0,1 (8). Dart s sod. svetuje terapevtsko presaditev le v primeru perforacije, intumescentne katarakte ali fulminantnega roženičnega abscesa (21), saj je prognoza optične presaditve, ko je okužba obvladana in vnetje umirjeno, mnogo boljša (slika 11).



Slika 10: Okužba roženice s *Pseudomonas aeruginosa* pri nosilcu kontaktnih leč.
A: Perforacija roženice: descemetokela v centru obsežnega abscesa.
B: Terapevtski presadek roženice 1 teden po posegu: presaditev je v tem primeru tako tektonski za ohranitev integritete zrkla kot tudi terapevtska z namenom odstranitve nekrotičnega tkiva, ki vzpodbuja vnetje in preprečuje celjenje.
C: Terapevtski presadek roženice 1 leto po posegu: odstranjeni so šivi, ki so bili zrahljani, in dodani šivi za korekcijo astigmatizma; vidna ostrina, korigirana z očali, je 1,0.



Slika 11: Okužba roženice z *akantamebo* pri nosilki mehkih kontaktnih leč
A: Aktivna okužba z epitelnimi in subepitelnimi infiltrati.
B: Brazgotina, široka in nereaktivna zenica ter bela katarakta 1 leto po začetku zdravljenja.
C: Stanje po optični presaditvi roženice in operaciji bele katarakte, zdravljenje s kapljicami pilokarpina zaradi široke zenice; vidna ostrina, korigirana z očali, je 1,0.

Pri zdravljenju okužb, ki zajemajo roženico in beločnico in se širijo proti zakotju, se poslužujemo hibridne terapevtske lamelarne/penetrantne keratoplastike, pri kateri uporabimo celotno debelino donorske roženice premera 13 mm, ki jo položimo na 12-milimetrsko periferno lamelarno

posteljico s centralno 8-milimetrsko odprtino celotne debeline. Prednosti tovrstnega posega vključujejo zmanjšano pojavnost glavkoma in zavrnitve predvsem zaradi zaščite zakotja ter prosto centralno vidno os z odstranjenjo obolelo roženico v celotni debelini (32).

ZAKLJUČEK

Roženične okužbe so pogoste, vendar v večini primerov ne pustijo trajnih posledic za vid. Redko vodijo v težji potek, ki je največkrat kombinacija virulence in vrste povzročitelja ter pridružene očesne patologije. Pomembno je, da pri sumu na težji potek identificiramo povzročitelja in pričnemo s pravočasnim in zadostnim zdravljenjem ter v primeru neizboljševanja oz. pojava zapletov ne odlašamo z napotitvijo bolnika k specialistom za bolezni roženice. Zdravljenje zapletov, predvsem perforacij, je težavno in vključuje različne kirurške tehnike, od presaditve amnijske membrane, uporabe lepil, obližnih presadkov in keratoplastike. Končni izhodi za vid so zelo različni in odvisni od vrste dejavnikov, na splošno pa so mnogo boljši pri bakterijskih in virusnih okužbah kot pri akantamebnih in glivičnih.

LITERATURA

1. Arentsen J.J, Laibson P.R, Cohen E.J. *Management of corneal descemetocelles and perforations. Ophthalmic Surg.* 1985;16:29–33.
2. Setlik DE, Seldomridge DL, Adelman RA, Semchysyn TM, Afshari NA. *The effectiveness of isobutyl cyanoacrylate tissue adhesive for the treatment of corneal perforations. Am J Ophthalmol.* 2005;140(5):920–1
3. Hirst LW, Smiddy WE, Stark WJ. *Corneal perforations: changing methods of treatment, 1960–1980. Ophthalmology.* 1982;89:630–635.
4. Portnoy SL, Inslar MS, Kaufman HE. *Surgical management of corneal ulceration and perforation. Surv Ophthalmol.* 1989;34:47–58.
5. Saini JS, Sharma A, Grewal SPS. *Chronic corneal perforations. Ophthalmic Surg.* 1992;23:399–402.
6. Lekskul M, Fracht HU, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. *Nontraumatic corneal perforation. Cornea.* 2000;19(3):313–9.
7. Sharma N, Sachdev R, Jhanji V, Titiyal JS, Vajpayee RB. *Therapeutic keratoplasty for microbial keratitis. Curr Opin Ophthalmol.* 2010;21(4):293–300.

8. Sharma N, Jain M, Sehra SV, Maharana P, Agarwal T, Satpathy G, et al. Outcomes of therapeutic penetrating keratoplasty from a tertiary eye care centre in northern India. *Cornea*. 2014;33(2):114–8.
9. Rigas B, Huang W, Honkanen R. NSAID-induced corneal melt: Clinical importance, pathogenesis, and risk mitigation. *Surv Ophthalmol*. 2020;65(1):1–11
10. Dougherty PJ, Hardten DR, Lindstrom RL. Corneoscleral melt after pterygium surgery using a single intraoperative application of mitomycin-C. *Cornea*. 1996;15(5):537–40.
11. Keithahn MA, Gross RH, Mannis MJ, Morales RB, Morse LS. Corneal perforation associated with argon laser photocoagulation for a retinal tear. *Am J Ophthalmol*. 1997 Jan;123(1):125–7.
12. Prajna NV, Krishnan T, Mascarenhas J, Rajaraman R, Prajna L, Srinivasan M, et al. Mycotic Ulcer Treatment Trial Group. The mycotic ulcer treatment trial: a randomized trial comparing natamycin vs voriconazole. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(4):422–9.
13. Dart JKG, Papa V, Rama P, Knutsson KA, Ahmad S, Hau S, et al. The Orphan Drug for Acanthamoeba Keratitis (ODAK) Trial: PHMB 0.08% (Polihexanide) and Placebo versus PHMB 0.02% and Propamidine 0.1. *Ophthalmology*. 2024;131(3):277–87.
14. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, et al. Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. 2019;8(3):163–76.
15. Hatami H, Ghaffari Jolfayi A, Ebrahimi A, Golmohammadi S, Zangiabadian M, Nasiri MJ. Contact Lens Associated Bacterial Keratitis: Common Organisms, Antibiotic Therapy, and Global Resistance Trends: A Systematic Review. *Front Ophthalmol (Lausanne)*. 2021;1:759271.
16. Ofloxacin monotherapy for the primary treatment of microbial keratitis: a double-masked, randomized, controlled trial with conventional dual therapy. The Ofloxacin Study Group. *Ophthalmology*. 1997;104(11):1902–9.
17. Lobo AM, Agelidis AM, Shukla D. Pathogenesis of herpes simplex keratitis: The host cell response and ocular surface sequelae to infection and inflammation. *Ocul Surf*. 2019;17(1):40–9.
18. Wilhelmus KR, Falcon MG, Jones BR. Bilateral herpetic keratitis. *Br J Ophthalmol*. 1981;65:385–7.
19. Norn MS. Dendritic (herpetic) keratitis, I: incidence-seasonal variations-recurrence rates-visual impairment-therapy. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1970;48:91–107.
20. Kalezic T, Mazen M, Kuklinski E, Asbell P. Herpetic eye disease study: lessons learned. *Curr Opin Ophthalmol*. 2018;29(4):340–6.
21. Dart JK, Saw VP, Kilvington S. Acanthamoeba keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(4):487–99.
22. Xie L, Zhong W, Shi W, Sun S. Spectrum of fungal keratitis in north China. *Ophthalmology*. 2006;113(11):1943–8.
23. Keay LJ, Gower EW, Iovieno A. Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States: a multicenter study. *Ophthalmology*. 2011;118(5):2001–7.
24. Jurkunas U, Behlau I, Colby K. Fungal keratitis: changing pathogens and risk factors. *Cornea*. 2009;28(6):638–43.

25. Pong JC, Law R, Lai J. Risk factors for treatment of fungal keratitis. *Ophthalmology*. 2007;114(3):617.
26. Shi W, Wang T, Xie L. Risk factors, clinical features, and outcomes of recurrent fungal keratitis after corneal transplantation. *Ophthalmology*. 2010;117(5):890–6.
27. Li DQ, Zhou N, Zhang L, Ma P, Pflugfelder SC. Suppressive effects of azithromycin on zymosan-induced production of proinflammatory mediators by human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Nov;51(11):5623–9.
28. Sadrai Z, Hajrasouliha AR, Chauhan S, Saban DR, Dastjerdi MH, Dana R. Effect of topical azithromycin on corneal innate immune responses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(5):2525–31.
29. Kagkellaris KA, Makri OE, Georgakopoulos CD, Panayiotakopoulos GD. An eye for azithromycin: review of the literature. *Ther Adv Ophthalmol*. 2018;10:2515841418783622.
30. Sharma N, Sahay P, Maharana PK, Singhal D, Saluja G, Bandivadekar P, et al. Management Algorithm for Fungal Keratitis: The TST (Topical, Systemic, and Targeted Therapy) Protocol. *Cornea*. 2019;38(2):141–5.
31. Akpek EK, Altan-Yaycioglu R, Gottsch JD, Stark WJ. Spontaneous corneal perforation in a patient with unusual unilateral pellucid marginal degeneration. *J Cataract Refract Surg*. 2001;27(10):1698–700.
32. Yalniz-Akkaya Z, Burcu A, Doğan E, Onat M, Ornek F. Therapeutic penetrating keratoplasty for infectious and non-infectious corneal ulcers. *Int Ophthalmol*. 2015;35(2):193–200.
33. Ficker LA, Kirkness C, Wright P. Prognosis for keratoplasty in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*. 1993;100:105–10.
34. Perry HD, Doshi SJ, Donnenfeld ED, Bai GS. Topical cyclosporin A in the management of therapeutic keratoplasty for mycotic keratitis. *Cornea*. 2002;21(2):161–3.
35. Kashiwabuchi RT, de Freitas D, Alvarenga LS, Vieira L, Contarini P, Sato E, et al. Corneal graft survival after therapeutic keratoplasty for *Acanthamoeba* keratitis. *Acta Ophthalmol*. 2008;86(6):666–9.

NOVOSTI PRI MIKROBIOLOŠKI DIAGNOSTIKI OKUŽB ROŽENICE

Miroslav Petrovec¹, Tina Uršič¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

IZVLEČEK

Okužbo roženice oziroma infekcijski keratitis lahko povzročajo različne vrste mikroorganizmov, ki vključujejo bakterije, glive, viruse in parazite. Najpogostejša bakterijska povzročitelja keratitisa sta bakteriji *Staphylococcus aureus* in *Pseudomonas aeruginosa*, med glivami pa povzročitelji iz vrst *Fusarium* in *Candida*. Najpogostejša povzročitelja virusnega keratitisa sta virus herpesa simpleksa 1 (HSV-1) in virus varičele zostra (VZV), akantameba pa je najpogostejši povzročitelj keratitisa med paraziti. Pri sumu na keratitis so v izogib kasnejšim zapletom, ki lahko vodijo celo v izgubo vida, pomembni čimprejšnji obisk oftalmologa, odvzem kakovostnega vzorca za mikrobiološko diagnostiko ter čimprejšnji pričetek ustreznega zdravljenja.

Ključne besede: roženica, okužba, keratitis, odvzem vzorca, mikrobiološka diagnostika

UVOD

Okužba roženice oziroma infekcijski keratitis je v manj razvitem svetu pomemben vzrok okvare vida ali celo slepote. Najpogostejši simptomi keratitisa so bolečina, občutek tujka v očesu, občutljivost na svetlobo, solzenje, rdeče oči in izcedek, ki je lahko tudi gnojni. Infekcijski keratitis lahko povzročajo različne vrste mikroorganizmov, ki vključujejo bakterije, glive, viruse in parazite. Najpogostejša bakterijska povzročitelja keratitisa sta

bakteriji *Staphylococcus aureus* in *Pseudomonas aeruginosa* (1), medtem ko so med glivami najpogostejše povzročitelji iz vrst *Fusarium* in *Candida* (2–4). Medtem ko so najpogostejši povzročitelji virusnega keratitisa virus herpesa simpleksa 1 (HSV-1), virus varičele zostra (VZV) (5) in adenovirus (AdV) (6), je med paraziti najpogostejši povzročitelj keratitisa pri osebah, ki nosijo kontaktne leče, akantameba (3, 7). Dejavniki tveganja za nastanek keratitisa vključujejo nošenje kontaktnih leč, poškodbe očesa, bolezni oči, zaplete po operaciji in imunsko pomanjkljivost. Neustrezna higiena kontaktnih leč je pomemben dejavnik tveganja, zlasti za bakterijski in akantamebni keratitis. Diagnoza običajno vključuje postrganje ali bris roženice za kulturo, ki omogoča določitev bakterijskega povzročitelja, testiranje občutljivosti na antibiotike pa pomaga pri usmeritvi v ustrezno protimikrobno zdravljenje. Verižna reakcija s polimerazo (PCR) vzorca in *in vivo* konfokalna mikroskopija roženice sta dodatni diagnostični orodji, ki ju je mogoče uporabiti, zlasti za glivni keratitis in keratitis, ki ga povzroča akantameba. Pred leti smo virusne povzročitelje dokazovali z metodo neposredne imunofluorescence, v zadnjem obdobju pa jih dokazujemo z bolj občutljivo molekularno metodo verižne reakcije s polimerazo (PCR). Pri hudih oblikah keratitisa je potreben kirurški poseg (8).

Pri sumu na infekcijski keratitis so v izogib komplikacijam, ki lahko vodijo do okvare vida, oslepitve ali celo izgube očesa, pomembni čimprejšnji obisk oftalmologa, odvzem kakovostnega vzorca za mikrobiološko diagnostiko ter čimprejšnji pričetek zdravljenja (3). Uspešno obvladovanje infekcijskega keratitisa običajno dosežemo s kombinacijo orodij za natančno diagnozo in ciljno pravočasno protimikrobno zdravljenje, v primerih hudih oblik keratitisa pa je morda potreben tudi kirurški poseg (8). Zdravljenje se razlikuje glede na povzročitelja, ki smo ga dokazali v odvzetem vzorcu. Bakterijski keratitis se zdravi z lokalnimi in peroralnimi antibiotiki, glivni keratitis z lokalnimi in peroralnimi antimikotiki, medtem ko se virusni keratitis zdravi lokalno in peroralno s protivirusnimi zdravili (3).

BAKTERIJSKI KERATITIS

Bakterijski keratitis (BK) je najpogostejši vzrok infekcijskega keratitisa tako v Veliki Britaniji kot tudi v severni in južni Ameriki ter na Bližnjem vzhodu (9–12). Gre za urgentno stanje, ki zahteva takojšnjo pozornost, saj lahko okužba zelo hitro napreduje. Bakterijski keratitis je najpogostejši vzrok okvare vida (13). Najpogostejši povzročitelji bakterijskega keratitisa so bakterije *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* in *Pseudomonas aeruginosa*. Bakterije v državah z visoko stopnjo nošenja kontaktnih leč povzročajo približno 90 % infekcijskega keratitisa (14), pri čemer je najpogostejši povzročitelj bakterija *Pseudomonas aeruginosa*, ki lahko v povezavi s kontaktnimi lečami povzroči več kot 40 % razjed na roženici (15).

Vzorec izbire za mikrobiološko diagnostiko bakterijskega keratitisa je bodisi postržek roženice, bris roženice ali biopsija roženice. Mikrobiološki diagnostični testi izbora za dokaz bakterijskih povzročiteljev so barvanje po Gramu, bakterijska kultura skupaj z določitvijo antibiotične občutljivosti (antibiogram) in molekularna metoda PCR. Z barvanjem po Gramu lahko ločimo bakterije od gliv in ameb. Bakterije lahko ločimo glede na barvanje na Grampozitivne oz. Gramnegativne bakterije, morfološko pa še na koke (v verižicah ali grozdih) in bacile. Barvanje po Gramu v 60 do 75 % pravilno zazna vrsto bakterije (9, 13, 16).

Za bakterijsko kulturo se uporabljajo različna gojišča, vključno s krvnim, čokoladnim agarjem, tioglikolatnim gojiščem ter Saboro obogatitvenim gojiščem. Identifikacija bakterij je včasih temeljila na prepoznavanju značilnih bakterijskih kolonij in biokemični vrsti, v zadnjih letih pa na identifikaciji s pomočjo masne spektrometrije MALDI TOF (17). Bakterijska kultura se po uspešnosti identifikacije bakterij močno razlikuje, in sicer je uspešna v 38 do 66 % (9, 13, 16). V primerih progresivnega bakterijskega keratitisa, ko dobimo negativni rezultat brisa ali postržka roženice, je vzorec izbire biopsija roženice, pri čemer se polovico vzorca uporabi za histopatološko preiskavo, polovico pa za mikrobiološko preiskavo (18). Bakterijska kultura je zamudna z vidika identifikacije povzročitelja keratitisa, zato narašča potreba po bolj občutljivih in hitrejših diagnostičnih metodah. Verižna reakcija s polimerazo PCR je molekularna metoda, ki je tudi v

bakteriologiji vse bolj uporabljena metoda. Z njo prepoznavamo značilne odseke 16S ribosomske deoksiribonukleinske kisline (DNK), ki vsebuje 9 variabilnih regij, ki so značilne za posamezen rod ali vrsto bakterij. Z določanjem nukleotidnega zaporedja (sekvenciranjem) pozitivnega pridelka PCR in primerjanjem zaporedja v bazi podatkov lahko dokažemo povzročitelja. Prednost PCR je v hitrosti, relativno nizki ceni in visoki občutljivosti v primerjavi z bakterijsko kulturo in barvanjem po Gramu. Molekularne metode so se izkazale tudi v primerih počasi rastočih bakterij in organizmov, ki jih je s tradicionalnimi mikrobiološkimi metodami težko gojiti (3). Omejitev molekularnim metod predstavlja možnost za lažno pozitivne rezultate zaradi prisotnosti komenzalnih bakterij ali slabe specifičnosti PCR (3), zato je pri interpretaciji potrebna še posebna previdnost.

V 10-letnem obdobju, med letoma 2015 in 2024, je bilo z Očesne klinike UKC Ljubljana na Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo poslanih 2604 vzorcev roženice na bakterijsko kulturo, pri čemer je bilo pozitivnih 843 vzorcev oz. 32,4 % vseh vzorcev, iz katerih je bilo pridobljenih 967 različnih bakterijskih izolatov. Najpogosteje smo dokazali prisotnost bakterij iz rodu *Staphylococcus*, in sicer v 29,6 %, bakterije iz rodu *Pseudomonas* smo dokazali v 11,1 %, bakterije iz rodu *Streptococcus* pa smo dokazali v 6 % vseh primerov.

VIRUSNI KERATITIS

Virusni keratitis je pogosta oblika infekcijskega keratitisa, najpogostejša patogena, ki ga povzročata, pa virus herpesa simpleksa 1 (HSV-1) in virus varičele zostra (VZV). Raziskave so pokazale, da naj bi skupaj povzročala med 15 in 21 % infekcijskih keratitisev (19, 20). Oba virusa po primarni okužbi ostaneta v latentni obliki v senzoričnih nevronih vključujoč trigeminalni živec in se lahko večkrat reaktivirata. Predispozicijski faktorji za kronični oz. ponavljajoči herpetični keratouveitis oz. keratitis so imunosupresija, poškodbe oči, operacija sive mrežnice in družinska anamneza (5, 21, 22). Keratitis, ki ga povzroča HSV-1 (HSK), je prevladujoči vzrok monokularne infekcijske slepote v razvitem svetu (3). Ocenjuje se, da ima v Združenih

državah Amerike (ZDA) petsto tisoč ljudi očesni herpes, pri čemer pri enem od petih pride do razvoja keratitisa, zaradi katerega obstaja povečano tveganje za oslepitev (3). Herpetični keratitis je pogosto povezan z nevrotrofično keratopatijo, ki je povezana s slabim celjenjem roženice, povečanim tveganjem za ponavljajoči infekcijski keratitis in drugimi komplikacijami roženice (23, 24). Keratitis, ki ga povzroča virus varičele zoster (HZK), se lahko izrazi v različnih oblikah. Patogeneza vključuje reaktivacijo latentnega virusa iz trigeminalnega živca, kar privede do obraznega pasavca, ki zajema tudi področje oči, to pa lahko privede do keratitisa (25, 26).

Diagnostika virusnega keratitisa vključuje kombinacijo kliničnega pregleda in laboratorijskih preiskav. Glavne diagnostične metode vključujejo klinični pregled z biomikroskopom, s čimer se prepoznavajo značilne dendritične spremembe, ki so značilne za HSK. Epitelne spremembe pri HZK tvorijo psevdodendrite, ki so majhne fine lezije v razvejanem vzorcu, ki jih tvorijo otekle in nakopičene epitelne celice roženice. Psevdodendriti so pri HZK locirani bolj na periferni roženici. Za namen mikrobiološke diagnostike ob sumu na virusni keratitis pošljemo v laboratorij bodisi postržek roženice, bris roženice ali biopsijo roženice. Brise in postržke se v čim krajšem času pošlje v transportnem gojišču za viruse. Kadar to ni mogoče, se vzorec do pošiljanja shrani pri temperaturi 4 °C.

Mikrobiološka diagnostika izbora za dokaz virusnega keratitisa so molekularne metode PCR, ki so visoko specifične in občutljive in s katerimi dokažemo prisotnost nukleinske kisline virusa ne samo kvalitativno, ampak tudi kvantitativno (27).

Diagnostična metoda izbora je tudi virusna kultura, ki je dolgo veljala za pomemben standard. V zadnjih letih se je njena uporaba močno zmanjšala zaradi daljšega časa, ki je potreben do rezultata. Metoda omogoča izolacijo in identifikacijo virusa, vendar je manj občutljiva kot PCR.

Na inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo dokazujemo povzročitelje virusnega keratitisa z molekularnimi metodami. V 10-letnem obdobju, med letoma 2015 in 2024, je bilo z Očesne klinike UKC Ljubljana na diagnostiko virusnega keratitisa poslanih 1196 vzorcev roženice. Skupno je bilo pozitivnih 199 vzorcev oz. 16,6 % vzorcev. Najpogosteje smo dokazali

HSV-1, in sicer v 178 vzorcih oz. 14,9 % vzorcev, VZV v 19 vzorcih oz. 1,6 % vzorcev in AdV v 2 vzorcih oz. 0,2 % vzorcev. Čeprav je bilo na diagnostiko citomegalovirusa (CMV) in virusa Epstein-Barr (EBV) poslanih 132 oz. 50 vzorcev, v 10-letnem obdobju teh dveh virusov v vzorcih roženice nismo dokazali.

GLIVNI KERATITIS

Glivni keratitis (GK) je nevarna bolezen in eden najpogostejših vzrokov za slepoto v predelu Azije (28). Glivni keratitis predstavlja med 6 in 53 % vseh infekcijskih keratitsov, odvisno od države (28, 29). Dejavniki ogroženosti (tveganja) za razvoj glivnega keratitisa so suhe oči in poškodbe roženice predvsem pri ljudeh, ki delajo na kmetijah in na prostem. Glivni keratitis povzročajo glive kvasovke in nitaste glive. Med kvasovkami so najpomembnejši povzročitelji GK glive iz rodu *Candida* (30), med nitastimi glivami pa so najpogostejši povzročitelji glive iz rodov *Fusarium* in *Aspergillus*. Čeprav so bakterije najpogostejši povzročitelj keratitisa pri osebah, ki nosijo kontaktne leče, pa pri njih lahko dokažemo tudi glivni keratitis. Klinično se glivni keratitis razlikuje glede na to, ali je povzročitelj kvasovka ali nitasta gliva, pri čemer je klinična slika glivnega keratitisa, ki ga povzroča kvasovka, bolj podobna bakterijskemu keratitisu (3, 31). Mikrobiološka diagnostika vključuje neposredno mikroskopijo postržka roženice, ki je zelo cenjena metoda, saj je hitra in z njo lahko dokažemo nitaste glive. Od 65 do 75 % vzorcev nitastih gliv je pozitivnih na barvanje po Gramu ali Giemsi (32). Barvanje z 10-odstotnim kalijevim hidroksidom (KOH) je še ena pogosto uporabljena diagnostična metoda z 61- do 99,2-odstotno občutljivostjo in 91- do 97-odstotno specifičnostjo (32). Mikrobiološka diagnostika za dokaz gliv vključuje tudi kulturo, ki je pomemben standard, kjer se postržek roženice nacepi na gojišča (29). Vzorce roženice se nacepi na krvni in čokoladni agar, prav tako pa na Saboro agar, ki ga zaradi nižjega pH in ob dodatku antibiotikov uporabimo kot selektivno gojišče, ki daje prednost rasti gliv. Nacepljena gojišča inkubiramo na temperaturah med 22 in 25 °C, plošče pa odčitamo po 48 do 72 urah gojenja (31). Kolonije *Candida albicans* se na Saborojevem gojišču pojavijo kot gladke bleščeče dvignjene kolonije kremne barve, med tem ko vrste iz rodu *Fusarium*

rastejo kot ravne bele puhaste kolonije, ki lahko prerastejo celo ploščo (29). Čeprav je kultura pomemben standard za diagnostiko gliv iz postržka roženice, pa ima ta samo 25-odstotno občutljivost. Kadar nismo uspešni pri mikrobiološki diagnostiki iz postržka roženice, je za dokaz povzročitelja potrebna biopsija roženice, saj nitaste glive potrebujejo več dni, včasih tudi tednov, za rast. Metoda izbire je tudi *in vivo* konfokalna mikroskopija, neinvazivna metoda, s katero lahko opazujemo roženico od epitela do endotela, vključno z živci in celicami; z njim lahko vidimo tudi nitaste glive in ciste Akantamebe (3, 29, 30). Občutljivost *in vivo* konfokalne mikroskopije za glive je med 80 in 94 %, s specifičnostjo med 78 in 91,1 % (3, 28, 29). V zadnjem času se v mikrobiološki diagnostiki GK uporabljajo tudi molekularne metode PCR, katerih občutljivost je med 75 in 100 %, specifičnost pa med 50 in 100 % v primerjavi s kulturo postržka roženice (28–30, 33). Kadar sta kultura in barvanje negativna, uporabimo metodo PCR. Metoda ima več pozitivnih lastnosti: potrebujemo malo vzorca, rezultat pa dobimo v 4 do 8 urah. PCR se je izkazal tudi v začetni fazi okužbe, ko je gliv v vzorcu še malo. Metoda PCR se uporablja kot podporna metoda za hitro odkrivanje glivnih povzročiteljev za kar čimprejšnji pričetek antimikotičnega zdravljenja, medtem ko čakamo na rezultate ostalih mikrobioloških metod (29, 30).

V 10-letnem obdobju (2015–2024) smo na Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo prejeli 1424 vzorcev roženice za dokaz prisotnosti gliv, od tega je bilo na kulturo ali mikroskopski pregled poslanih 99 % vseh vzorcev. Oseminpetdeset vzorcev je bilo pozitivnih na prisotnost gliv, kar je predstavljalo 4,1 % vseh vzorcev. Najpogosteje so bile dokazane glive iz rodu *Candida*, in sicer v 26 od 58 pozitivnih vzorcev oz. v 44,8 % vseh pozitivnih vzorcev, glive iz rodu *Aspergillus* smo dokazali v 9 od 58 pozitivnih vzorcev oz. v 15,5 % ter glive iz rodu *Fusarium* v 8 od 58 pozitivnih vzorcev oz. v 13,8 % vseh pozitivnih vzorcev. Le 14 vzorcev oz. 1 % vseh vzorcev je bil poslanih na molekularni dokaz, pri čemer sta bila pozitivna 2 vzorca.

AKANTAMEBNI KERATITIS

Acanthamoeba so prostoživeče enocelične praživali, ki jih najdemo v zemlji in skoraj vseh vodnih virih. Akantamebna okužba očesa se lahko kaže v obliki akantamebnega keratitisa (AK), ki je redka kompleksna okužba, ki ogroža vid. Oči lahko okužijo različne vrste *Acanthamoeba* (34, 35). Pojavnost AK je višja v razvitih državah v primerjavi z državami v razvoju, saj večino primerov povežemo z redno uporabo mehkih kontaktnih leč in njihovo slabo higieno (36–38). Okužbe so pogostejše pri mlajših osebah (pogostejša uporaba kontaktnih leč) (36) in v poletnih mesecih, saj so takrat površinske vode bolj obremenjene z amebami (39). Diagnoza AK se postavi dokaj pozno, in sicer zaradi nizke incidence. V Veliki Britaniji in ZDA poročajo o 3- do 15-odstotni incidenci AK (36). Avstralija beleži 3,6 primera letno (40). V državah v razvoju, Indiji, je uporabnikov kontaktnih leč malo in je večina AK povezanih s kontaminirano zemljo, vodo ali poškodbami oči pri ljudeh, ki ne nosijo kontaktnih leč (41). Bolezenski znaki AK so podobni keratitisu, ki ga povzroča HSV-1, vendar je okužba z amebo *Acanthamoeba* bolj boleča.

Na AK pomislimo, kadar zdravljenje keratitisa z antibiotiki ni uspešno. Diagnozo AK lahko postavimo na osnovi bolnikove anamneze, klinične slike in z uporabo *in vivo* konfokalne mikroskopije. Med *in vivo* konfokalno mikroskopijo lahko najdemo ciste akantamebe, medtem ko je trofozoite težko ločiti od levkocitov in jeder keratocitnih celic. Abrazija epitela lahko pomaga znižati obremenitev z akantamebo.

Postržek roženice se odvzame v 2-mililitrsko epruvetko s sterilno fiziološko raztopino (lahko jo naročite v sprejemni pisarni inštituta). Optimalni transport vzorca je v 15 minutah pri sobni temperature ali v manj kot 4 urah pri 37 °C.

Iz postržka roženice naredimo nativni preparat ali preparat pobarvamo po Giemsi ali Gramu ter ga pregledamo na trofozoite in ciste amebe s svetlobnim mikroskopom. Ciste ameb lahko iščemo tudi v razmazih, barvanih s kalkofluor belim. Pri pregledu preparatov z UV-mikroskopom se ciste svetijo rumenozeleno ali modro. Odvzeto kužnino lahko kultiviramo na gojišču (agarju), na katerem je bila predhodno cepljena enterobakterija *Escherichia coli*. Trofozoiti ameb, ki se prehranjujejo z bakterijami, po nekaj dneh za seboj puščajo vidne sledi. V materialu, odvzetem s površine

agarske plošče, lahko z mikroskopskim pregledom prepoznamo značilne trofozoite amebe. Ko trofozoitom zmanjka hrane, tj. bakterij, se encistirajo. Medtem ko je kultura na agarju z *E. Coli* pomemben standard za diagnostiko *Acanthamoeba*, se v mikrobiološki diagnostiki vse bolj uveljavlja tudi molekularna metoda PCR, ki ima veliko boljšo občutljivost (42, 43). Pomembno pri metodi PCR je, da je narejena tako, da z njo lahko dokažemo različne vrste *Acanthamoeba* (Multiplex-PCR), da ne prihaja do lažno negativnih rezultatov.

V 10-letnem obdobju, med letoma 2015 in 2024, smo na Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo z Očesne klinike UKC Ljubljana prejeli 100 vzorcev roženice na 124 različnih preiskav na diagnostiko praživali. Pozitivnih je bilo 18 preiskav oz. 14,5 % vseh naročenih preiskav. Na kulturo je bilo poslanih 74 vzorcev, mikroskopska preiskava na *Acanthamoeba* je bila naročena za 17 vzorcev, na molekularni dokaz *Acanthamoeba* je bilo poslanih 33 vzorcev. Največji odstotek pozitivnih vzorcev je bil z molekularno metodo PCR, in sicer 27,3 % vseh vzorcev.

DISKUSIJA

Infekcijski keratitis je peti najpogostejši vzrok slepote na svetu (3). Zgodnja diagnoza in ustrezno zdravljenje sta ključna elementa pri preprečevanju zapletov, kot sta okvara vida in slepota. Za dokaz BK, GK in AK so primarni mikrobiološki diagnostični testi izbora, kultura postržka roženice in identifikacija povzročitelja. Dodatno so molekularne metode PCR in *in vivo* konfokalna mikroskopija metode izbora za določitev povzročitelja. Pri virusnih keratitisih, ki jih povzročata HSV-1 in VZV, je prav tako metoda izbora PCR. V zadnjem času se vse bolj uveljavljata tudi amplikonsko in metagenomsko sekvenciranje naslednje generacije (NGS), ki sta obetavni diagnostični metodi. Tarčno amplikonsko sekvenciranje je cenejši pristop in omogoča selektivno tarčno pomnoževanje in sekvenciranje 16S/18S rRNA za bakterije ter značilne konzervativne regije virusov.

Pri metagenomskem pristopu sekvenciramo vse nukleinske kisline brez tarčno specifičnih začetnikov. S tem omogočimo sekvenciranje vsega genetskega materiala, prisotnega v vzorcu. Gre za metodo izbora, ko z

vsemi tradicionalnimi diagnostični pristopi nismo uspešni pri identifikaciji povzročitelja (44). Ne glede na vse naštetost ostajajo izzivi pri infekcijskem keratitisu. Pomembno je izobraževanje vseh uporabnikov kontaktnih leč o njihovi uporabi in higieni. Pomemben je razvoj novih, hitrih, občutljivih in specifičnih testov, ki nam omogočajo hitro diagnostiko infekcijskega keratitisa in so cenovno sprejemljivi. Nenazadnje je potrebna preudarna uporaba protimikrobnih zdravil, s čimer bi se izognili povečanju stopnje protimikrobne odpornosti, s tem pa tudi zapletom, ki ogrožajo vid (3).

LITERATURA

1. Urwin L, Okurowska K, Crowther G, Roy S, Garg P, Karunakaran E, et al. *Corneal Infection Models: Tools to Investigate the Role of Biofilms in Bacterial Keratitis*. *Cells*. (2020) 9(11). DOI 10.3390/cells9112450
2. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. *A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology*. *Clin Infect Dis*. (2018) 67(6):813–6. DOI 10.1093/cid/ciy584
3. Cabrera-Aguas M, Khoo P, Watson SL. *Infectious keratitis: A review*. *Clin Exp Ophthalmol*. (2022) 50(5):543–62. DOI 10.1111/ceo.14113
4. Thomas PA, Kaliyamurthy J. *Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management*. *Clin Microbiol Infect*. (2013) 19(3):210–20. DOI 10.1111/1469-0691.12126
5. Labetoulle M, Boutolleau D, Burrell S, Haigh O, Rousseau A. *Herpes simplex virus, varicella-zoster virus and cytomegalovirus keratitis: Facts for the clinician*. *Ocul Surf*. (2023) 28:336–50. DOI 10.1016/j.jtos.2021.07.002
6. Rajaiya J, Saha A, Ismail AM, Zhou X, Su T, Chodosh J. *Adenovirus and the Cornea: More Than Meets the Eye*. *Viruses*. (2021) 13(2). DOI 10.3390/v13020293
7. Ting DSJ, Ho CS, Deshmukh R, Said DG, Dua HS. *Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance*. *Eye (Lond)*. (2021) 35(4):1084–101. DOI 10.1038/s41433-020-01339-3
8. Said DG, Rallis KI, Al-Aqaba MA, Ting DSJ, Dua HS. *Surgical management of infectious keratitis*. *Ocul Surf*. (2023) 28:401–12. DOI 10.1016/j.jtos.2021.09.005
9. Ting DSJ, Ho CS, Cairns J, Elsahn A, Al-Aqaba M, Boswell T, et al. *12-year analysis of incidence, microbiological profiles and in vitro antimicrobial susceptibility of infectious keratitis: the Nottingham Infectious Keratitis Study*. *Br J Ophthalmol*. (2021) 105(3):328–33. DOI 10.1136/bjophthalmol-2020-316128
10. Tam ALC, Cote E, Saldanha M, Lichtinger A, Slomovic AR. *Bacterial Keratitis in Toronto: A 16-Year Review of the Microorganisms Isolated and the Resistance Patterns Observed*. *Cornea*. (2017) 36(12):1528–34. DOI 10.1097/ICO.0000000000001390

11. Marujo FI, Hirai FE, Yu MC, Hofling-Lima AL, Freitas D, Sato EH. [Distribution of infectious keratitis in a tertiary hospital in Brazil]. *Arq Bras Oftalmol.* (2013) 76(6):370–3. DOI 10.1590/s0004-27492013000600011
12. Politis M, Wajnsztajn D, Rosin B, Block C, Solomon A. Trends of Bacterial Keratitis Culture Isolates in Jerusalem; a 13- Years Analysis. *PLoS One.* (2016) 11(11):e0165223. DOI 10.1371/journal.pone.0165223
13. Cabrera-Aguas M, Khoo P, George CRR, Lahra MM, Watson SL. Antimicrobial resistance trends in bacterial keratitis over 5 years in Sydney, Australia. *Clin Exp Ophthalmol.* (2020) 48(2):183–91. DOI 10.1111/ceo.13672
14. Durand ML, Barshak MB, Chodosh J. Infectious Keratitis in 2021. *JAMA.* (2021) 326(13):1319–DOI 20. 10.1001/jama.2021.0424
15. Bennett L, H YH, Tai S, Ernst B, Schmidt EJ, Parihar R, et al. Contact Lens Versus Non-Contact Lens-Related Corneal Ulcers at an Academic Center. *Eye Contact Lens.* (2019) 45(5):301–5. DOI 10.1097/ICL.0000000000000568
16. Ferreira CS, Figueira L, Moreira-Goncalves N, Moreira R, Torrao L, Falcao-Reis F. Clinical and Microbiological Profile of Bacterial Microbial Keratitis in a Portuguese Tertiary Referral Center-Where Are We in 2015? *Eye Contact Lens.* (2018) 44(1):15–20. DOI 10.1097/ICL.0000000000000298: PMID:
17. Rychert J. Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology.* (2019) 4(2):1–5.
18. Robaei DC, U.T.; Khoo, P.; Cherepanoff, S.; Li, Y.C.; Hanrahan, J.; Watson, S. Corneal biopsy for diagnosis of recalcitrant microbial keratitis. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* (2018) 256:1527–33. DOI 10.1007/s00417-018-3981-1:
19. Mandour SS, Marey HM, Farahat HG. Resistant Microbial Keratitis in South Nile Delta, Egypt: Influence of Regional Risk Factors. *Semin Ophthalmol.* (2016) 31(5):473–8. DOI 10.3109/08820538.2014.962174
20. Pan XJ, Jiang T, Zhu H, Liu PP, Zhou ZY, Mao AJ. Corneal infection in Shandong peninsula of China: a 10-year retrospective study on 578 cases. *Int J Ophthalmol.* (2016) 9(1):53–7. DOI 10.18240/ijo.2016.01.09
21. Liesegang TJ. Herpes zoster ophthalmicus natural history, risk factors, clinical presentation, and morbidity. *Ophthalmology.* (2008) 115(2 Suppl):S3-12. 10.1016/j.ophtha.2007.10.009: PMID:
22. Kawai K, VoPham T, Drucker A, Curhan SG, Curhan GC. Ultraviolet Radiation Exposure and the Risk of Herpes Zoster in Three Prospective Cohort Studies. *Mayo Clin Proc.* (2020) 95(2):283–92. DOI 10.1016/j.mayocp.2019.08.022
23. Ting DSJ, Ghosh N, Ghosh S. Herpes zoster ophthalmicus. *BMJ.* (2019) 364:k5234. DOI 10.1136/bmj.k5234
24. Tuli S, Gray M, Shah A. Surgical management of herpetic keratitis. *Curr Opin Ophthalmol.* (2018) 29(4):347–54. DOI 10.1097/ICU.0000000000000484
25. Magone MT, Nasser RE, Cevallos AV, Margolis TP. Chronic recurrent varicella-zoster virus keratitis confirmed by polymerase chain reaction testing. *Am J Ophthalmol.* (2005) 139(6):1135–6. DOI 10.1016/j.ajo.2004.12.014

26. Hu AY, Strauss EC, Holland GN, Chan MF, Yu F, Margolis TP. Late varicella-zoster virus dendriform keratitis in patients with histories of herpes zoster ophthalmicus. *Am J Ophthalmol.* (2010) 149(2):214–20 e3. DOI 10.1016/j.ajo.2009.08.030
27. Inata K, Miyazaki D, Uotani R, Shimizu D, Miyake A, Shimizu Y, et al. Effectiveness of real-time PCR for diagnosis and prognosis of varicella-zoster virus keratitis. *Jpn J Ophthalmol.* (2018) 62(4):425–31. 10.1007/s10384-018-0604-7
28. Watson SL, Cabrera-Aguas M, Keay L, Khoo P, McCall D, Lahra MM. The clinical and microbiological features and outcomes of fungal keratitis over 9 years in Sydney, Australia. *Mycoses.* (2020) 63(1):43–51. 10.1111/myc.13009
29. Kumar RL, Cruzat A, Hamrah P. Current state of in vivo confocal microscopy in management of microbial keratitis. *Semin Ophthalmol.* (2010) 25(5-6):166–70. 10.3109/08820538.2010.51851630. Qiao GL, Ling J, Wong T, Yeung SN, Iovieno A. Candida Keratitis: Epidemiology, Management, and Clinical Outcomes. *Cornea.* (2020) 39(7):801–5. 10.1097/ICO.0000000000002306: PMID:
31. Donovan C, Arenas E, Ayyala RS, Margo CE, Espana EM. Fungal keratitis: Mechanisms of infection and management strategies. *Surv Ophthalmol.* (2022) 67(3):758–69. 10.1016/j.survophthal.2021.08.002
32. Srinivasan M. Fungal keratitis. *Curr Opin Ophthalmol.* (2004) 15(4):321–7. 10.1097/00055735-200408000-00008
33. Taravati P, Lam D, Van Gelder RN. Role of molecular diagnostics in ocular microbiology. *Curr Ophthalmol Rep.* (2013) 1(4). 10.1007/s40135-013-0025-1
34. Khan NA. Acanthamoeba: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev.* (2006) 30(4):564–95. 10.1111/j.1574-6976.2006.00023.x
35. Dart JK, Saw VP, Kilvington S. Acanthamoeba keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol.* (2009) 148(4):487–99 e2. 10.1016/j.ajo.2009.06.009
36. de Lacerda AG, Lira M. Acanthamoeba keratitis: a review of biology, pathophysiology and epidemiology. *Ophthalmic Physiol Opt.* (2021) 41(1):116–35. 10.1111/opo.12752
37. Hassan F, Bhatti A, Desai R, Barua A. Analysis from a year of increased cases of Acanthamoeba Keratitis in a large teaching hospital in the UK. *Cont Lens Anterior Eye.* (2019) 42(5):506–11. 10.1016/j.clae.2019.04.009
38. Lorenzo-Morales J, Martin-Navarro CM, Lopez-Arencibia A, Arnalich-Montiel F, Pinero JE, Valladares B. Acanthamoeba keratitis: an emerging disease gathering importance worldwide? *Trends Parasitol.* (2013) 29(4):181–7. 10.1016/j.pt.2013.01.006
39. Yoder JS, Verani J, Heidman N, Hoppe-Bauer J, Alfonso EC, Miller D, et al. Acanthamoeba keratitis: the persistence of cases following a multistate outbreak. *Ophthalmic Epidemiol.* (2012) 19(4):221–5. 10.3109/09286586.2012.681336
40. Hollhumer R, Keay L, Watson SL. Acanthamoeba keratitis in Australia: demographics, associated factors, presentation and outcomes: a 15-year case review. *Eye (Lond).* (2020) 34(4):725–32. 10.1038/s41433-019-0589-6
41. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Padmavathy S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbial keratitis in South India: influence of risk factors, climate, and geographical variation. *Ophthalmic Epidemiol.* (2007) 14(2):61–9. 10.1080/09286580601001347

42. Goh JWY, Harrison R, Hau S, Alexander CL, Tole DM, Avadhanam VS. Comparison of In Vivo Confocal Microscopy, PCR and Culture of Corneal Scrapes in the Diagnosis of Acanthamoeba Keratitis. *Cornea*. (2018) 37(4):480–5. [10.1097/ICO.0000000000001497](https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001497)
43. Ikeda Y, Miyazaki D, Yakura K, Kawaguchi A, Ishikura R, Inoue Y, et al. Assessment of real-time polymerase chain reaction detection of Acanthamoeba and prognosis determinants of Acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology*. (2012) 119(6):1111–9. [10.1016/j.ophtha.2011.12.023](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.12.023)
44. Pan XY, Wang M, Xu YD, Wang LN. Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Diagnosis of Infectious Keratitis. *J Ophthalmol*. (2024) 2024:9911979. [10.1155/2024/9911979](https://doi.org/10.1155/2024/9911979)

SODOBNE DIAGNOSTIČNE SLIKOVNE METODE ROŽENICE

Špela Štunf Pukl^{1,2}

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

IZVLEČEK

Namen: Prikaz diagnostičnih slikovnih metod, ki se uporabljajo v klinični praksi za bolnike z okvarami roženice.

Metode: Pregled literature, sistematični prikaz različnih diagnostičnih slikovnih metod s poudarkom na tistih, ki jih v vsakodnevni klinični praksi uporabljamo v ambulantni za refraktivno kirurgijo in bolezni roženice Očesne klinike UKC Ljubljana; sinteza diagnostičnih slikovnih metod na kliničnih primerih bolnikov.

Rezultati: Med sodobne diagnostične slikovne metode za prikaz roženice spadajo topografija, tomografija, optična koherentna tomografija sprednjega segmenta (*angl.* Anterior segment optical coherence tomography – AS-OCT), spekularna mikroskopija in *in vivo* konfokalna mikroskopija (IVKM). Pri nas uporabljamo Sirius+ (CSO, Firenze, Italija), ki je kombinacija topografijske Placido disk in tomografije Schempfplug. Za AS-OCT uporabljamo Heidelberg spectralis ali Anterion (oboje Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija), med posegi pa intraoperativni OCT – iOCT Zeiss Artevo 800 (Zeiss, Jena, Nemčija). Spekularno mikroskopijo izvajamo z napravo EM-4000 (Tomey, Nernberg, Nemčija) in IVKM z napravo HRT3 RCM (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija).

Prikazani so klinični primeri 1.a – bolnica s Fuchsovo distrofijo roženice pred in po endotelni transplantaciji, 1.b – pred in po descemetoreksi brez presadka; 2 – bolnik s keratokonusom s sekundarno ekazijo starega presadka pred in po retransplantaciji; 3 – bolnica s keratitisom, povzročnim z *Achantamoeba*; 4 – bolnik s sumom na nevropatijo tankih vlaken in avtoimunskim sistemskim obojenjem; 5 – bolnica z bulozno keratopatijo po eksplantaciji fakične IOL iz sprednjega prekata pred in po endotelni keratoplastiki in sekundarni operaciji s torično IOL.

Zaključki: Sodobne diagnostične slikovne metode za prikaz roženice omogočajo natančen morfološki in optični vpogled, pomagajo nam pri postavljanju diagnoze, svetovanju glede posegov in ugotavljanju pričakovanih izhodov. Poslužujemo se multimodalnega prikaza, vedno pa pri obravnavi roženičnih sprememb celostno pregledamo in po potrebi slikovno prikažemo tudi ostale očesne strukture, vključno z natančno diagnostiko očesne površine in očesnega ozadja.

Ključne besede: roženica, topografija, tomografija, AS-OCT, spekularna mikroskopija, *in vivo* konfokalna mikroskopija – IVKM

UVOD

1. Roženica anatomija, fiziologija

Roženica je prozorna avskularna struktura sprednjega dela očesa, ki je odgovorna za zaščito notranjih struktur ter je pomemben refraktivni element očesa. Je rahlo ovalna in meri horizontalno 11–12 mm ter vertikalno 10–11 mm. V prerezu je prolatne oblike, kar je anatomska osnova naravne asferičnosti. Asferičnost označuje vrednost Q, normalno znaša 0,26 in je razlika med spremembo radija v centru in na periferiji roženice. Roženica ima visok refraktivni indeks (1,376) in skupaj s solznim filmom prispeva okrog 42 dioptrij oziroma dve tretjini celotne moči refraktivnega aparata očesa. Sestavljena je iz petih slojev: epitela s pomembno vlogo zaščite in obnove, njegove debele stabilizirajoče bazalne membrane – imenovane Baumanova membrana, glavmino debeline daje stroma roženice, notranji sloj je Descemetova membrana in enoslojni endotel (1, 2). Endotelne celice so pri zdravem posamezniku enoslojni mozaik heksagonalnih celic v fazi G1 brez možnosti delitve. Njihovo število se giblje okrog 500.000. To je mesto aktivnega transporta vode iz roženice (3), mejijo na sprednji prekat in prekatno vodko. To je tudi pomembno mesto razlike v refraktivnem indeksu, ki je fizikalna osnova spekularnega pregleda roženice (4). Nedavno so dokazali obstoj dodatnega sloja posteriorne strome in ga po odkritelju poimenovali Dua-ov sloj (5).

Za integriteto roženice – občutljivost, zaščito, celjenje, obnovo in vlaženje – je pomembna njena izdatna oživčenost. Roženica je najgosteje oživčeno tkivo v telesu. Oživčenost izvira iz oftalmične veje trigeminusa preko ciliarnih živcev, ki vstopajo v stromo roženice na periferiji in formirajo subbazalni živčni pletež med Bowmanovo membrano in epitelom (6, 7).

Osnovno refraktivno funkcijo omogoča natančna razporeditev kolagenskih molekul v fibrile in njihova vzporedna urejenost v lamele. Geometrijsko urejena razporeditev kolagenske mreže zmanjša sipanje svetlobe in skupaj z odsotnostjo žilja ter dehiriranostjo omogoča prozornost roženice (8, 9).

Nenazadnje je pomembna tudi zaščitna funkcija, ki jo roženica nudi zaradi svoje čvrste kolagenske strukture in posledičnih biomehanskih lastnosti (10).

2. Klinična diagnostika okvar roženice

V klinični diagnostiki bolnikov z roženičnimi okvarami nas zanima tako funkcija kot struktura in oblika roženice.

Poleg osnovnega pregleda vidne ostrine v diagnostiki okvar roženice izvajamo meritve subjektivne in objektivne refrakcije z elektronsko refrakcijo in keratometrijami ter opravimo biometrijo očesa. Pri bolnikih z nepravilno ukrivljenostjo površine roženice se poslužujemo tudi testiranja vidne ostrine s poltrdo kontaktno lečo.

Opravimo teste solznega filma, test in meritev občutljivosti, oceno barvanja očesne površine po točkovnih shemah, oceno hiperimije zrkla po točkovnih shemah in oceno robov vek po točkovnih shemah. Prikažemo in izmerimo solzni meniskus, razpolovni čas solz (*angl.* Tear break-up time, TBUT) ter opravimo meibomografijo.

Roženico pregledamo z biomikroskopom od epitela do endotela in ugotavljamo prisotnost nepravilnosti, brazgotin, vaskularizacije, znake okvare zaordnih limbalnih epitelnih celic, znake roženičnih distrofij, degenerativnih sprememb ter prisotnost ali posledice okužb ali vnetnih procesov. Prikažemo epitelno mapo – debelino epitela v vsaki točki površine. Na različne načine lahko izmerimo debelino roženice –

pahimetrija. Zanima nas topografski vzorec sprednje površine roženice. S tomografijo in optično koherentno tomografijo roženice imamo vpogled tako v obliko sprednje kot tudi v obliko zadnje površine in 3-dimenzionalno sliko z debelino in izračunano refraktivno močjo. Celične spremembe epitela, strome ali endotela, spremembe subbazalnega živčnega pleteža in morebitne patološke stromalne spremembe in vključke lahko prikažemo z *in vivo* konfokalno mikroskopijo (IVKM). Endotelne celice pa lahko razen z IVKM prikažemo in preštejemo tudi s spekularno mikroskopijo. Pri prozorni stromi lahko s spekularno mikroskopijo slikamo centralne kot tudi periferne endotelne celice.

Za dokumentiranje in spremljanje stanja opravimo različne oblike fotografiranja roženice, njenih delov in okolnih struktur.

Sodobne diagnostične metode sežejo preko slikovnega prikaza v prikaze na celičnem nivoju s pomočjo impresijske citologije in ustreznih celičnih barvanj, histologijo pri operacijah pridobljenih vzorcev, preiskave genetike, epigenetike, serološke in sistemske preiskave vnetnih pokazateljev itd.

V prvem delu so sistematično zajete diagnostične slikovne metode za prikaz roženice, s poudarkom na tistih, ki jih v klinični praksi uporabljamo pri nas.

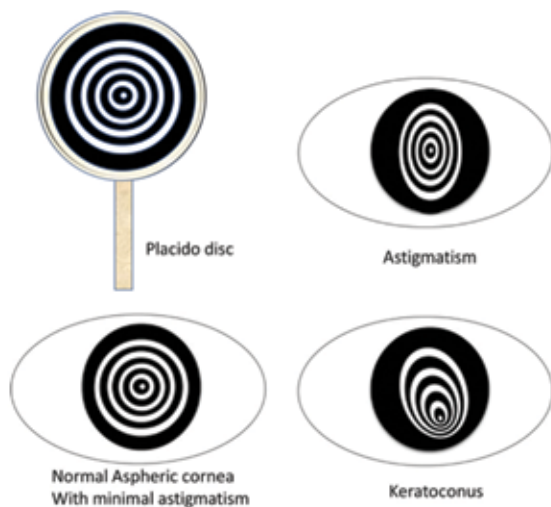
V drugem delu je predstavljena sinteza uporabljenih diagnostičnih slikovnih metod s prikazom 6 kliničnih primerov bolnikov s spremembami roženice.

SODOBNE DIAGNOSTIČNE SLIKOVNE METODE ZA PRIKAZ ROŽENICE

1. Sistematični prikaz

1.1. Topografija roženice

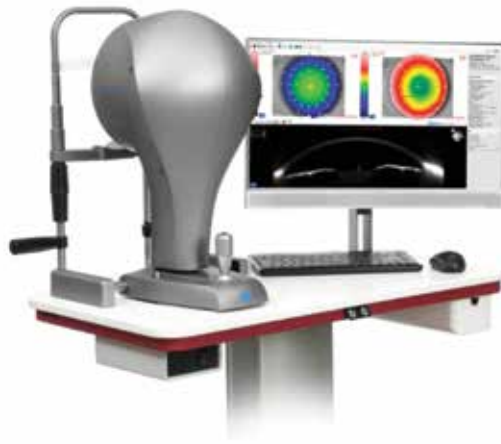
Topografija roženice je preiskava površine roženice (11). Naprave za topografijo delujejo po enem od dveh principov: i. naprave s Placido diski, ii. naprave z barvnimi LED (12).



Slika 1: Princip delovanja naprav s Placido diski in nekaj osnovnih vzorcev (11).

S topografijo ugotavljamo regularni in iregularni astigmatizem (aberracije vsjega reda – HOA) pred posegi (13) ter znake za keratokonus in s sledenjem bolnikov stabilnost/progresijo keratokonusa (14). Med drugimi stanji je pomembna na primer opredelitev sferične aberracije pri izbiri asferičnosti intraokularne leče (IOL) za implantacijo pri operaciji katarakte ali čiste leče. Če ugotovimo nižjo asferičnost od normalne, se ne odločamo za asferične IOL (15).

Topografijo pri nas izvajamo z aparatom Sirius+ (CSO, Firenze, Italija), (slika 2), ki je kombinacija topografije Placido disk in tomografije Schempfplug. Prikažemo sprednjo površino roženice, zadnjo površino roženice in debelino, vse v topografskih mapah. Iz map lahko prepoznamo nepravilne vzorce (iregularni astigmatizem, asimetrični metuljček ...). Izračunamo sprednjo, zadnjo in celotno keratometrijo oz. lomno moč za različne premere. Prikažemo si lokacijo najtanjše točke in najtanjšo debelino roženice.



Slika 2: Apart Sirius+, CSO, Firenze, Italija.

1.2. Tomografija roženice

Tomografija roženice je tridimensionalni prikaz njene strukture. Naprave, ki omogočajo tomografijo, prikazujejo površino roženice, njeno debelino ter posteriorno (zadnjo) površino. Za ta prikaz uporabljajo različne tehnologije, kot so vrstična špranjska osvetlitev (*scanning slit*), Scheimpflugov princip (v rotirajoči se kameri) ter optična koherentna tomografija sprednjega segmenta.

Ena ključnih prednosti tomografije roženice je neposredni prikaz njene zadnje površine in lomnosti, kar je bistveno za zgodnje odkrivanje keratokonusa, še posebej pri izoliranih spremembah na zadnji površini roženice. Prav tako je tomografija pomembna pri zgodnjem odkrivanju sprememb pri endotelni distrofiji Fuchs, saj omogoča zaznavanje subkliničnega edema prek analize debeline in povečane reflektivnosti zadnjih slojev roženice.

Natančne meritve zadnje površine roženice, njene refraktivne moči in toričnosti so v zadnjem desetletju postale zelo pomembne za natančen izračun jakosti in cilindra intraokularnih leč, še posebej pri bolnikih, ki so predhodno prestali laserski refraktivni poseg na roženici.

Tomografija je trodimenzionalni prikaz roženice. Naprave prikažejo površino roženice, debelino in posteriorno površino. Naprave uporabljajo različne tehnologije za tak prikaz: vrstično špranjsko osvetlitev (*angl.* Scanning slit), Scheimpflug princip (v rotirajoči se kameri) in optično koherentno tomografijo sprednjega segmenta (16).

Med pomembne prednosti tomografije roženice spada neposredni prikaz zadnje površine roženice in njene lomnosti, kar je pomembno pri zgodnjem ugotavljanju keratokonusa z izolirano spremembno na zadnji površini (17). Prav tako je prikaz zadnjega dela roženice pomemben pri diagnostiki zgodnjih sprememb pri endotelni distrofiji Fuchs, kjer zaznamo subklinični edem preko razporeditve debeline in visoke reflektivnosti zadnjih slojev roženice (18–20).

Natančne meritve zadnje površine roženice, njene refraktivne moči in toričnosti so v zadnjem desetletju postale zelo pomembne za natančen izračun moči sfere in velikosti cilindra znotraj očesnih leč (21). To velja posebej pri bolnikih, ki so imeli laserski refraktivni poseg na roženici (22).

Pri nas izvajamo tomografijo skupaj s topografijo (glej poglavje 1.1).

1.3. Optična koherentna tomografija sprednjega segmenta

Optična koherentna tomografija sprednjega segmenta (*angl.* Anterior segment OCT – AS-OCT) deluje na osnovi nizko kohrentne interferometrije, tehnologije, s katero izmerimo časovno razliko od različnih struktur odbite infrardeče svetlobe različnih valovnih dolžin. Za prikaz struktur sprednjega segmenta se uporablja sodobnejša Fourierjeva tehnologija, in sicer spektralna domena, *angl.* Spectral domain OCT – SD-OCT, in izmenjujoči se vir, *angl.* Swept source OCT – SS-OCT. Slednja metoda je sodobnejša in boljše, saj uporablja daljšo valovno dolžino (1300 nm), kar omogoča večji kontrast v širokem globinskem razponu. To pomeni, da prodre globlje in zagotavlja boljšo vizualizacijo struktur sprednjega segmenta – od površine roženice do leče (24).

Zaradi teh lastnosti je AS-OCT vgrajen tudi v sodobne optične biometre za merjenje aksialne dolžine.

AS-OCT je hitra, nekontaktna, neinvazivni preiskovalna metoda, ki zagotavlja podrobne informacije o obliki, spremembah, lomnosti celotne roženice in njenih delov. Uporabljamo jo za merjenje debeline roženice, kjer je vsaj tako natančna kot druge primerljive tehnologije (25, 26), pri čemer v primerjavi s klasično ultrazvočno meritvijo nekoliko podceni vrednosti (27, 28). Za zgodnje stadije keratokonusa je AS-OCT boljši od drugih metod za prikaz subkliničnih sprememb (29). Pri klinično razvitem keratokonusu je AS-OCT boljši za prikaz sprednje in zadnje topografije z realnimi elevacijami (30–32). Uporablja se tudi za klasifikacijo keratokonusa (33).

Pri endotelih distrofijah je AS-OCT bolj ponovljiv in zanesljiv kot Schimpflugove naprave, saj omogoča natančno spremljanje predoperativnega stanja, njegov potek in pooperativne izide zdravljenja (34).

AS-OCT omogoča tudi vrednotenje solznega filma prek meritev višine in površine solznega meniskusa (35). Omogoča natančno izdelavo epitelne mape, kar pomeni, da lahko izmerimo debelino epitela v različnih točkah roženice (36–39). Uporablja se lahko pri obravnavi bolnikov s kontaktnimi lečami in pri fitanju na primer skleralnih kontaktnih leč (40–42).

Slikanje z AS-OCT je zelo uporabno pri različnih okužbah in vnetjih, kjer lahko merimo debelino oziroma stanjšanje, globino infiltrata, razlikujemo brazgotine od aktivnih področij, spremljamo potek (43–45) in odgovor na zdravljenje (46). V raziskavah ugotavljajo možnost uporabe AS-OCT za diferenciranje med povzročitelji (47).

AS-OCT po poškodbah roženice omogoča natančno oceno oblike rane, morebitnih razlogov za sekundarno puščanje po oskrbi, prisotnosti in globine zaostalih tujkov ter odnosa med ranami in drugimi strukturami v sprednjem očesnem prekatu (48–50).

Pri nas uporabljamo AS-OCT Anterion (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) (slika 3), ki nam omogoča vse naštetite modalitete, hkrati pa lahko supraponirano prikažemo refraktivne spremembe posameznih področij

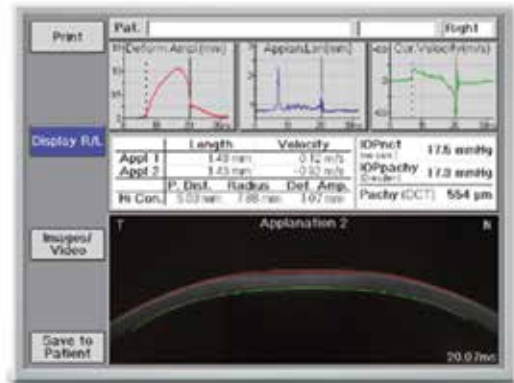
ter tako ocenimo funkcionalnost posameznih anatomskih najdb. Tako pri kirurških kot pri nekirurških primerih je pomembna tudi možnost prikaza odnosa do drugih struktur v sprednjem prekatu, zakotju ali lumbalno in za limbusom.



Slika 3: Aparat Anterior OCT, Heidelberg engineering, Heidelberg, Nemčija.

1.4. Merjenje biomehanskih lastnosti roženice

V zadnjih letih so se uveljavile metode za merjenje podajnosti oziroma trdnosti roženice. Te metode so pomembne pri razumevanju sprememb roženice, postavljanju določenih diagnoz, napovedovanju tveganja za sekundarno ektazijo po laserskih posegih ter pri oceni očesnega tlaka pri glavkomu (51–53). Teh naprav, npr. Corvis ST (slika 4), pri nas ne uporabljamo.



Slika 4: Corvis ST, Oculus, Arlington, ZDA.

1.5. Celične preiskave roženice

Za ohranjanje prozornosti roženice je ključno pravilno delovanje črpalne funkcije endotelnih celic, ki omogoča ustrezno dehidracijo strome, zato je prikaz endotelnih celic ključen pri številnih stanjih roženice. Pri drugih obolenjih in patoloških stanjih je pomemben prikaz stromalne zgradbe, subbazalnega živčnega pleteža, keratocitov ter tudi epitela in njegovih sprememb (54).

Med celične preiskave roženice spadajo spekularna mikroskopija in *in vivo* konfokalna mikroskopija (IVKM).

1.5.1. Spekularna mikroskopija

Spekularna mikroskopija je neinvazivna nekontaktna preiskava, ki deluje na osnovi optičnega odboja svetlobe, fokusirane na endotel (*angl.* Specular reflection) (55). Odboj 0,022 % projedirane svetlobe na meji med endotelnimi celicami in prekatno vodko je posledica razlike v refraktivnem indeksu, kar omogoča slikanje endotelnih celic (56). Spekularna mikroskopija je primerna za prikaz endotelnih celic in njihovih sprememb pri prozorni roženici (57). Hiperreflektivna področja so znak vnetja, hiporeflektivna pa kažejo na manke celic in gute (58).

Z analizo endotelnih celic dobimo podatke o gostoti (*angl.* cell density – CD) v celicah/mm² in morfologiji celic. Morfologijo opišejo koeficient variacije velikosti (*angl.* cell volume – CV) v μm^2 , variabilnost heksagonalne oblike (*angl.* hexagonality – HEX) v % in centralna debelina roženice (*angl.* central corneal thickness – CCT) v μm (59).

Spekularno mikroskopijo izvajamo pri endotelnih distrofijah, pri drugih patologijah endotelnih celic, npr. iridokornealnem endotelnem sindromu in herpetičnem endotelitisu, pri sekundarnih okvarah endotela, kot je npr. psevdofaka keratopatija, in po akutnem glavkomsem napadu. Uporabljamo jo tudi za prikaz in analizo endotela po transplantacijah ter za sledenje presadkov (59–61). Endotel je treba pregledati in spremljati tudi po različnih refraktivnih posegih na roženici ali refraktivnih posegih z implantacijo fakične leče (62).

Pred operacijo katarakte namenjamo posebno pozornost roženici pri diabetikih in starejših (63–66).

Pri nas imamo spekularni mikroskop znamke Tomey (slika 5).



Slika 5: Spekularni mikroskop EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska.

1.5.2. *In vivo* konfokalna mikroskopija roženice

IVKM je kontaktna metoda z laserjem, kjer s skenirajočim laserskim žarkom prikažemo vse strukture roženice od epitela do endotela, ne glede na prozornost. IVKM se od uporabe v raziskovalne namene vse bolj seli na področje kliničnih raziskav in v klinično prakso (67).

IVKM tako lahko uporabljamo pri boleznih očesne površine (68, 69), pri okužbah roženice (strome, živčnih končičev, endotela, herpetične okužbe) (70–73), za prikaz živčnih vlaken roženice pri nevropatijah in nevroloških boleznih (74–77) in za prikaz nevroregeneracije po transplantaciji roženice (78, 79). IVKM za razliko od spekularne mikroskopije omogoča prikaz endotela pri opacificirani stromi (80). Izvajamo jo tudi na primer pri roženičnih distrofijah (81, 82).

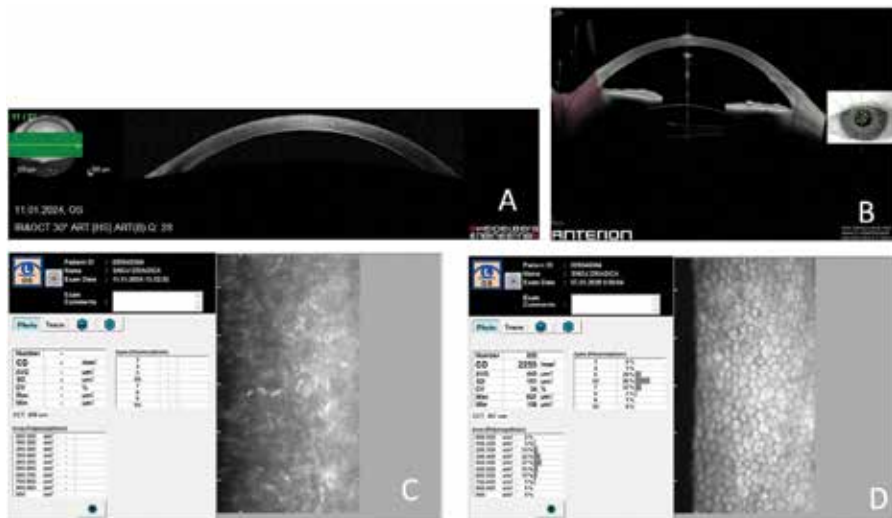
Pri nas za namene kliničnih raziskav in v diagnostiki sprememb endotela pri opacificirani stromi, diabetične keratopatije, okužb z *Achantamoeba* uporabljamo IVKM HRT3 RCM (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) (slika 6).



Slika 6: *In vivo* konfokalni mikroskop, IVKM HRT3 RCM, Heidelberg engineering, Heidelberg Nemčija.

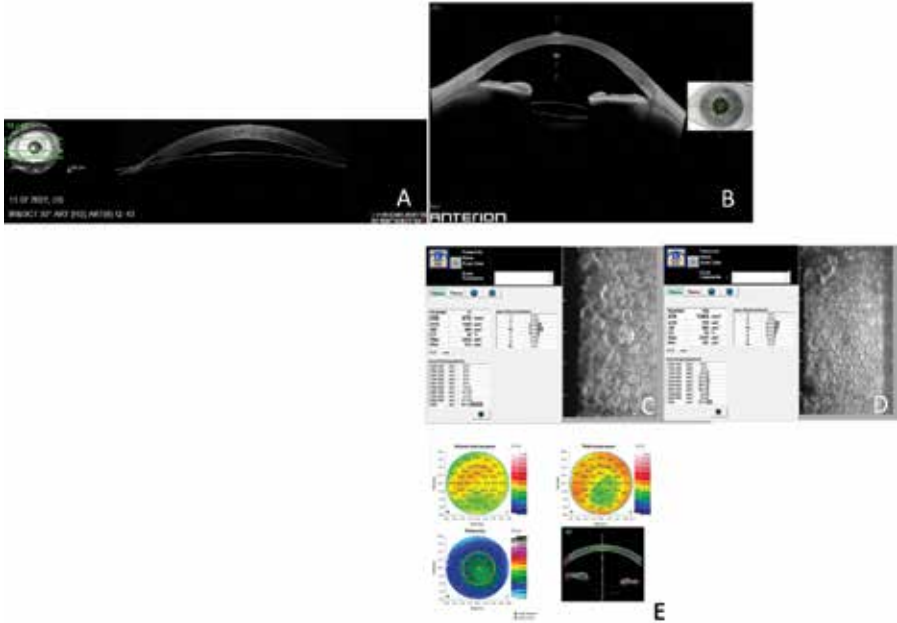
SLIKOVNA DIAGNOSTIKE ROŽENICE NA KLINIČNIH PRIMERIH

Klinični primer 1.a: Bolnica s Fuchsovo endotleno distrofijo roženice pred in po endotelni keratoplastiki presaditvi Descemetove membrane (*angl.* Descemet membrane endothelial keratoplasty – DMEK) na levem očesu.



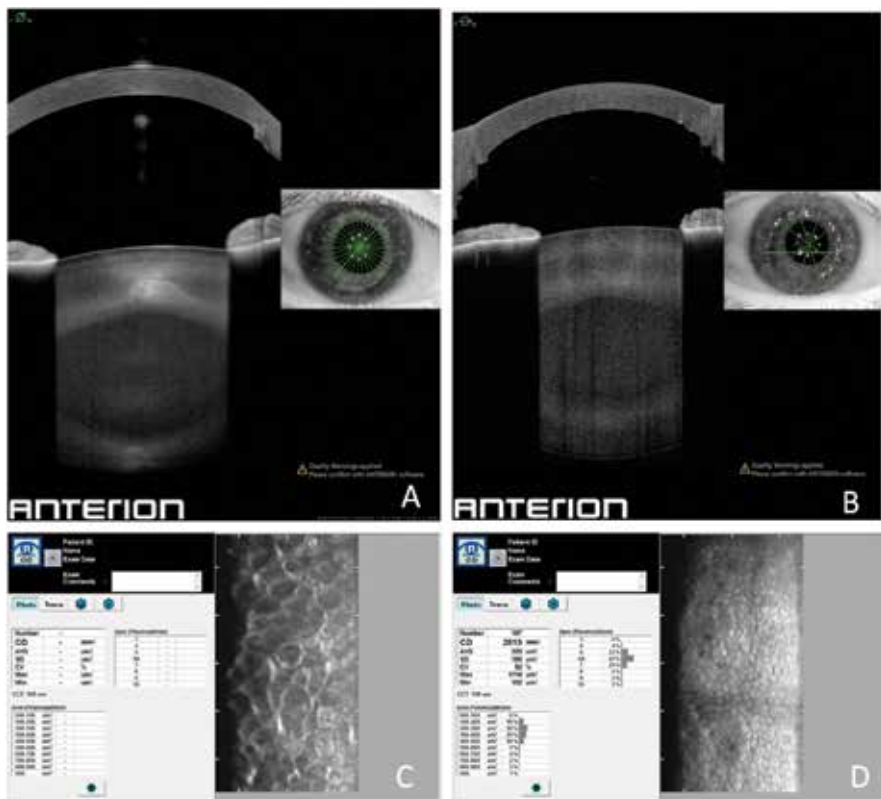
75-letna bolnica. A – AS OCT roženice Heidelberg Spectralis (Heidelberg, Nemčija) pred posegom pokaže zadebeljeno roženico s sploščeno posteriono površino. B – Anterior OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) po DMEK pokaže normalno debelino in anatomijo roženice. C – Spekularna miroskopija roženice (EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska) pred posegom pokaže spremenjene neprepoznavne endotelne celice. D – Spekularna miroskopija roženice (EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska) po posegu pokaže normalne endotelne celice na presadku. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

Klinični primer 1.b: Bolnica s Fuchsovo endotleno distrofijo roženice pred in po posegu descemetoreksa brez presadka (*angl.* Descemet stripping only – DSO).



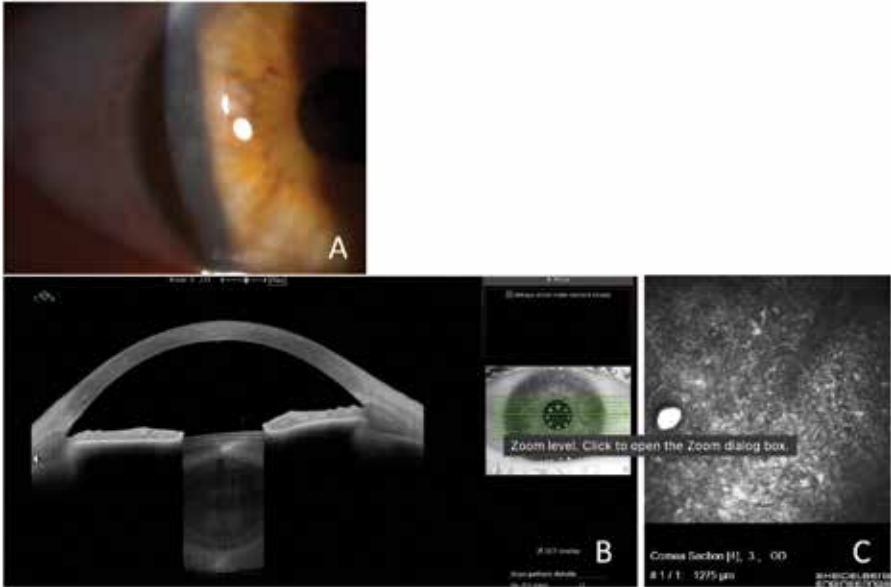
82-letna bolnica: A – AS OCT roženice Heidelberg Spectralis (Heidelberg, Nemčija) pred posegom pokaže zadebeljeno roženico s sploščeno posteriono površino. B – Anterior OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) po DSO pokaže normalno debelino in anatomijo roženice. C, D – Spekularna miroskopija roženice (EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska) po DSO 3 in 6 mesecev pokaže postopno povečanje števila endotelnih celic in izboljšanje parametrov normalne morfologije. E – Anterior OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija), tomografija po DSO pokaže normalno debelino in topografijo roženice. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

Klinični primer 2: Bolnik s keratokonusom z ektazijo in dekompenzacijo presadka po penetrantni keratoplastiki pred 25 leti pred in po ponovni penetrantni keratoplastiki velikega premera na desnem očesu.



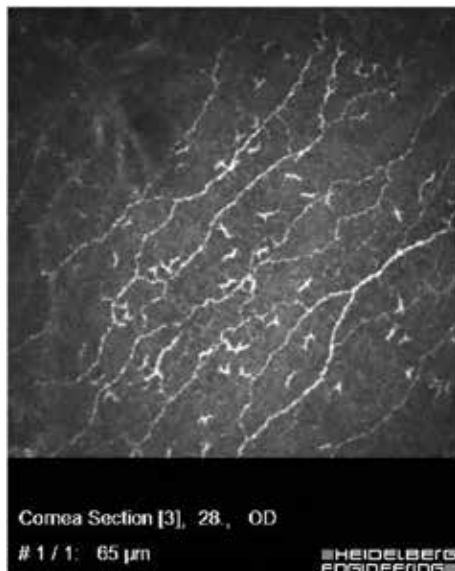
69-letni bolnik: A – Anterior OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) pred reoperacijo prikaže ektazijo na periferiji in pomembno stanjšanje prejemnikovega roba, poglobljen sprednji prekat. B – Anterior OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) po rePKP premera 9 mm prikaže normalno anatomijo roženice z novim presadkom in normalno anatomijo sprednjega prekata. C – Spekularna miroskopija roženice (EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska) pred reoperacijo prikaže zmanjšano gostoto in spremenjeno morfologijo endotelnih celic. D – Spekularna miroskopija roženice (EM-400, Tomey, Nagoya, Japonska) po retransplantaciji pokaže visoko gostoto in premeren mozaik endotelnih celic na novem presadku. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

Klinični primer 3: Bolnica s stromalnim keratitisom, povzročnim z *Acanthamoeba* na desnem očesu.



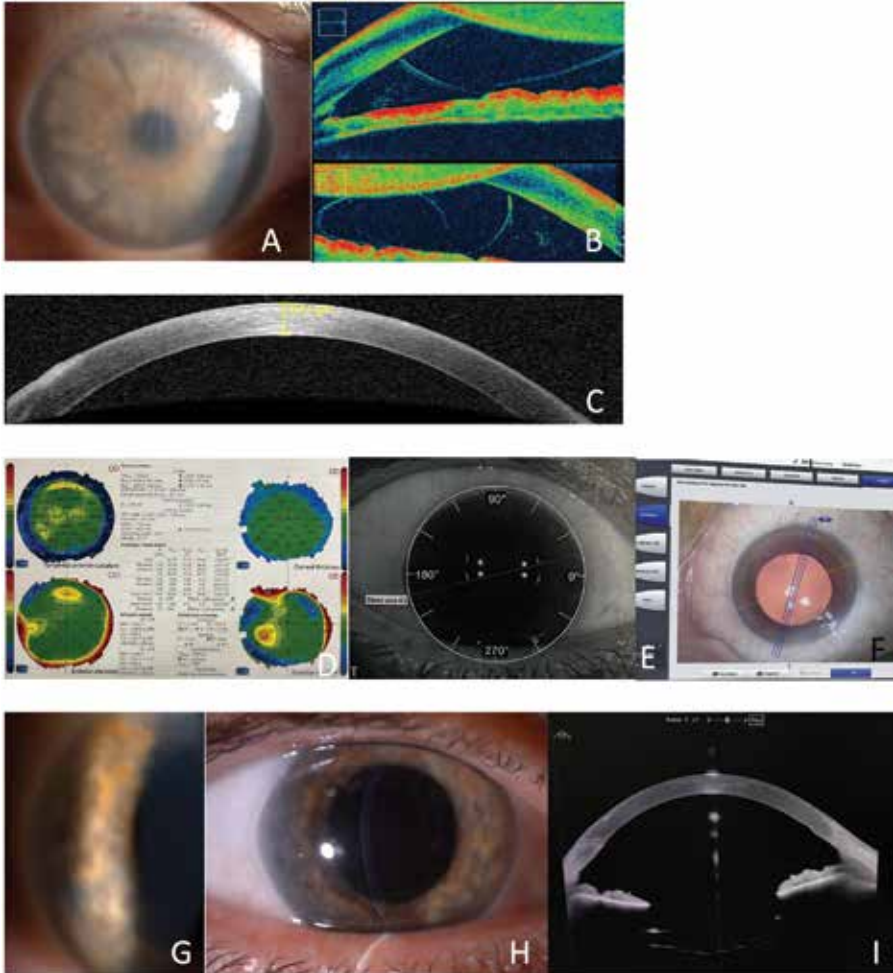
46-letna bolnica: A – Subepitelni infiltrati roženice periferno temporalno, foto slit. B – Antorion OCT roženice (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) prikaže perinevritis v temporalnem in nazlnem delu strome roženice. C – In vivo konfokalna mikroskopija roženice, HRT3 RCM (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) prikaže cisto z okolnim halojem, ki je značilna najdba za okužbo roženice z *Achantamoeba*. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

Klinični primer 4: Bolnik s simptomatsko nevropatijo tankih vlaken in sumom na sistemsko avtoimuno bolezen.



42-letni bolnik: A – IVKM roženice, HRT3 RCM (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) na globini 65 mikrometrov od površine roženice pokaže normalno gostoto, razvejanost in dolžino vlaken bazalnega živčnega pleteža (analiza s CCMetrix, Manchester, Velika Britanija) in številne dendritične celice, najdba, ki nakazuje na avtoimunsko bolezen. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

Klinični primer 5: Bolnica z bulozno keratopatijo in katarakto na desnem visoko kratkovidnem očesu. Bulozna keratopatija je nastala zaradi fakične IOL Artisan (Ophtec BV, Švica), ki je bila vstavljena 10 let predhodno in ob dekompenzaciji roženice odstranjena.



59-letna bolnica: A – predoperativni izgled roženice, foto. B – intraoperativni posnetek med posegom fakični DMEK, prikaz pravilno orientiranega endotelnega presadka z intraoperativnim iOCT Zeiss Artevo 800 (Zeiss, Jena,

Nemčija). C – AS OCT roženice Heidelberg Spectralis (Heidelberg, Nemčija) po DMEK, normalna debelina in anatomija roženice. D – Sirius+ (CSO, Italija) posnetek roženice po DMEK, visok astigmatizem proti pravilu. E, F – predoperativno IOL master 700 (Zeiss, Nemčija) in intraoperativno planiranje Callisto (Zeiss, Nemčija) osi torične IOL, G – rob. DMEK presadka. H – izgled očesa po obeh posegih. I – OCT Anterion Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija) roženice in IOL. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC Ljubljana.

ZAKLJUČKI

Sodobne slikovne diagnostične metode za prikaz roženice, kot so topografija, tomografija, AS-OCT, spekularna mikroskopija in *in vivo* konfokalna mikroskopija (IVKM), omogočajo natančen morfološki in optični vpogled v stanje roženice.

Povzemamo najpogostejše patologije:

- Keratokonus: Za diagnozo in spremljanje uporabljamo tridimenzionalni prikaz s Sirius+, ki združuje topografijo in tomografijo, ali AS-OCT.
- Endotelne distrofije: Pred in po posegih izvajamo spekularno mikroskopijo, ki jo primerjamo s slikami, pridobljenimi z AS-OCT.
- Okužbe, vnetja, poškodbe, brazgotine: V klinični praksi vse pogosteje kombiniramo AS-OCT in IVKM za bolj natančno diagnostiko in spremljanje.
- Po transplantacijah: Bolnike spremljamo s spekularno mikroskopijo in AS-OCT, hkrati pa stanje tudi fotodokumentiramo.

Vsakega bolnika obravnavamo individualno, pri čemer upoštevamo njegove težave, motivacijo in pričakovanja. Ob tem pristopamo celostno, saj pregledujemo in upoštevamo sistemsko stanje bolnika ter ostale očesne strukture, bolezni in morebitna pridružena stanja.

LITERATURA

1. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(3):588–98.
2. Calossi A. Corneal asphericity and spherical aberration. *J Refract Surg.* 2007;23(5):505–14.
3. Gupta PK, Berdahl JP, Chan CC, Rocha KM, Yeu E, Ayres B, Farid M, Lee WB, Beckman KA, Kim T, Holland EJ, Mah FS; from the ASCRS Cornea Clinical Committee. The corneal endothelium: clinical review of endothelial cell health and function. *J Cataract Refract Surg.* 2021;47(9):1218–26.
4. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch Ophthalmol.* 1979;97(9):1714–9.
5. Dua HS, Freitas R, Mohammed I, Ting DSJ, Said DG. The pre-Descemet's layer (Dua's layer, also known as the Dua-Fine layer and the pre-posterior limiting lamina layer): Discovery, characterisation, clinical and surgical applications, and the controversy. *Prog Retin Eye Res.* 2023;97:101161.
6. Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C. Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. *Exp Eye Res.* 1994;59(5):597–605.
7. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res.* 2003;76(5):521–42.
8. Maurice DM. The transparency of the corneal stroma. *Vision Res.* 1970;10(1):107–8.
9. Boote C, Dennis S, Newton RH, Puri H, Meek KM. Collagen fibrils appear more closely packed in the prepupillary cornea: optical and biomechanical implications. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(7):2941–8.
10. Chong J, Dupps WJ Jr. Corneal biomechanics: Measurement and structural correlations. *Exp Eye Res.* 2021;205:108508.
11. Kanclerz P, Khoramnia R, Wang X. Current Developments in Corneal Topography and Tomography. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(8):1466.
12. Ferreira TB, Ribeiro FJ. A novel color-LED corneal topographer to assess astigmatism in pseudophakic eyes. *Clin Ophthalmol.* 2016;10:1521–9.
13. Goto S, Maeda N. Corneal Topography for Intraocular Lens Selection in Refractive Cataract Surgery. *Ophthalmology.* 2021;128(11):e142–e152.
14. Sideroudi H, Flockerzi E, Seitz B. Differential Diagnosis of Keratoconus Based on New Technologies. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2023;240(1):57–72.
15. Goto S, Maeda N. Corneal Topography for Intraocular Lens Selection in Refractive Cataract Surgery. *Ophthalmology.* 2021;128(11):e142–e152.
16. Fan R, Chan TC, Prakash G, Jhanji V. Applications of corneal topography and tomography: a review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2018;46(2):133–46.
17. Henriquez MA, Hadid M, Izquierdo L Jr. A Systematic Review of Subclinical Keratoconus and Forme Fruste Keratoconus. *J Refract Surg.* 2020 1;36(4):270–9.
18. Patel SV. Imaging Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy in Clinical Practice and Clinical Trials. *Cornea.* 2021;40(12):1505–11.

19. Ambrósio R Jr, Guerra FP. *Advanced Corneal Imaging for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. Ophthalmology.* 2019;126(2):205–6.
20. Fujimoto H, Maeda N, Soma T, Oie Y, Koh S, Tsujikawa M, Nishida K. *Quantitative regional differences in corneal endothelial abnormalities in the central and peripheral zones in Fuchs' endothelial corneal dystrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(8):5090–8.
21. Langenbucher A, Szentmáry N, Cayless A, Hoffmann P, Wendelstein J, Pantanelli S. *Evaluation of keratometric and total corneal astigmatism measurements from optical biometers and anterior segment tomographers and mapping to reconstructed corneal astigmatism vector components. PLoS One.* 2025;20(1):e0313574.
22. Cobo-Soriano R, Rodríguez-Gutiérrez B, Bilbao-Calabuig R, Tejerina V, Fernández-Corrochano A, Druchkiv V, Beltrán J. *Trifocal IOL Implantation in Eyes With Previous Laser Corneal Refractive Surgery: The Impact of Corneal Spherical Aberration on Postoperative Visual Outcomes. J Refract Surg.* 2022;38(4):222–8.
23. Mirzayev I, Gündüz AK, Aydın Ellialtıođlu P, Gündüz ÖÖ. *Clinical applications of anterior segment swept-source optical coherence tomography: A systematic review. Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2023;42:103334.
24. Cho YJ, Lim TH, Choi KY, Cho BJ. *Comparison of ocular biometry using new swept-source optical coherence tomography-based optical biometer with other devices. Korean J Ophthalmol KJO.* 2018;32(4):257–64.
25. Chan TCY, Biswas S, Yu M, Jhanji V. *Comparison of corneal measurements in keratoconus using swept-source optical coherence tomography and combined placido-scheimpflug imaging. Acta Ophthalmol (Copenh).* 2017;95(6):e486–94.
26. Nowinska AK, Teper SJ, Janiszewska DA, et al. *Comparative study of anterior eye segment measurements with spectral swept-source and time-domain optical coherence tomography in eyes with corneal dystrophies. BioMed Res Int.* 2015;2015:805367.
27. Fukuda R, Usui T, Miyai T, Mori Y, Miyata K, Amano S. *Corneal thickness and volume measurements by swept source anterior segment optical coherence tomography in normal subjects. Curr Eye Res.* 2013;38(5):531–6.
28. Chen S, Huang J, Wen D, Chen W, Huang D, Wang Q. *Measurement of central corneal thickness by high-resolution Scheimpflug imaging, Fourier-domain optical coherence tomography and ultrasound pachymetry. Acta Ophthalmol.* 2012;90(5):449–55.
29. Esaka Y, Kojima T, Dogru M, et al. *Prediction of best-corrected visual acuity with swept-source optical coherence tomography parameters in keratoconus. Cornea.* 2019;38(9):1154–60.
30. Mohammed ISK, Tran S, Toledo-Espielt LA, Munir WM. *The detection of keratoconus using novel metrics derived by anterior segment optical coherence tomography. Int Ophthalmol.* 2022;42(7):2117–26.
31. Szalai E, Berta A, Hassan Z, Módis L. *Reliability and repeatability of swept-source Fourier-domain optical coherence tomography and scheimpflug imaging in keratoconus. J Cataract Refract Surg.* 2012;38(3):485–94.
32. Ghoreishi SM, Mortazavi SAA, Abtahi ZA, Abtahi MA, Sonbolestan SA, Abtahi SH, Mohammadinia M, Isfahani KN. *Comparison of Scheimpflug and swept-source anterior segment optical coherence tomography in normal and keratoconus eyes. Int Ophthalmol.* 2017;37(4):965–71.

33. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, Hamiche T, Galan A, Ghouali W, Goemaere I, Basli E, Borderie V, Laroche L. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification. *Ophthalmology*. 2013;120(12):2403–12.
34. Arnalich-Montiel F, Ortiz-Toquero S, Auladell C, Couceiro A. Accuracy of corneal thickness by swept-source optical coherence tomography and scheinpluf camera in virgin and treated fuchs endothelial dystrophy. *Cornea*. 2018;37(6):727–33.
35. Raj A, Dhasmana R, Nagpal RC. Anterior Segment Optical Coherence Tomography for Tear Meniscus Evaluation and its Correlation with other Tear Variables in Healthy Individuals. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(5):NC01–4.
36. Abusamak M. Corneal Epithelial Mapping Characteristics in Normal Eyes Using Anterior Segment Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Transl Vis Sci Technol*. 2022;11(3):6.
37. Beheshtnejad AH, Hani M, Abdolalizadeh P, Alipour F. Corneal Epithelial Thickness in Normal Corneas with Low and High Toricity. *J Curr Ophthalmol*. 2024;36(1):37–41.
38. Abtahi MA, Beheshtnejad AH, Latifi G, Akbari-Kamrani M, Ghafarian S, Masoomi A, Sonbolastan SA, Jahanbani-Ardakani H, Atighechian M, Banan L, Nouri H, Abtahi SH. Corneal Epithelial Thickness Mapping: A Major Review. *J Ophthalmol*. 2024;2024:6674747.
39. Alonso-Caneiro D, Shaw AJ, Collins MJ. Using optical coherence tomography to assess corneoscleral morphology after soft contact lens wear. *Optom Vis Sci*. 2012;89(11):1619–26.
40. Ramasubramanian D, Hernández-Verdejo JL, López-Alonso JM. Contact lens fitting and changes in the tear film dynamics: mathematical and computational models review. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2024;262(9):2751–64.
41. Vincent SJ, Alonso-Caneiro D, Collins MJ. Optical coherence tomography and scleral contact lenses: clinical and research applications. *Clin Exp Optom*. 2019;102(3):224–41.
42. Alonso-Caneiro D, Shaw AJ, Collins MJ. Using optical coherence tomography to assess corneoscleral morphology after soft contact lens wear. *Optom Vis Sci*. 2012;89(11):1619–26.
43. Sharma N, Singhal D, Maharana PK, Agarwal T, Sinha R, Satpathy G, Singh Bageshwar LM, Titiyal JS. Spectral Domain Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Fungal Keratitis. *Cornea*. 2018;37(11):1388–94.
44. Rodriguez-Garcia A, Alfaro-Rangel R, Bustamante-Arias A, Hernandez-Camarena JC. In Vivo Corneal Microstructural Changes in Herpetic Stromal Keratitis: A Spectral Domain Optical Coherence Tomography Analysis. *J Ophthalmic Vis Res*. 2020;15(3):279–88.
45. Almeida I, Dias L, Jesus J, Fonseca I, Matias MJ, Pedro JC. Optical coherence tomography angiography in herpetic leucoma. *BMC Med Imaging*. 2022;22(1):17.
46. Abdelghany AA, Alio JL, AttaAllah HR. Role of Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Staging and Evaluation of Treatment Response in Infectious Keratitis. *Cornea*. 2024;43(10):1216–22.
47. Khalil H, Bolz M, Waser K, Pomberger L, Laubichler P, Jirak P, Hirnschall N. Diagnostic Potential of Anterior Segment Optical Coherence Tomography Scans for Pseudomonas Keratitis. *Transl Vis Sci Technol*. 2023;12(11):34.

48. Wylegala E, Dobrowolski D, Nowińska A, Tarnawska D. Anterior segment optical coherence tomography in eye injuries. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009;247(4):451–5.
49. Al-Ghadeer HA, Al-Assiri A. Identification and localization of multiple intrastromal foreign bodies with anterior segment optical coherence tomography and ocular Pentacam. *Int Ophthalmol.* 2014;34(2):355–8.
50. Uyar E, Sarıbaş F. Evaluating Depth and Width of Corneal Wounds Using Anterior Segment Optical Coherence Tomography After Foreign Body Removal. *Semin Ophthalmol.* 2022;37(6):774–9.
51. Chong J, Dupps WJ Jr. Corneal biomechanics: Measurement and structural correlations. *Exp Eye Res.* 2021;205:108508.
52. Zhang D, Tian L, Zhang H, Zheng Y, Fu C, Zhai C, Jie Y, Li L. Differences of Corneal Biomechanics Among Thin Normal Cornea, Forme-Fruste Keratoconus, and Cornea After SMILE. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:861924.
53. Elhusseiny AM, Scarcelli G, Saeedi OJ. Corneal Biomechanical Measures for Glaucoma: A Clinical Approach. *Bioengineering (Basel).* 2023;10(10):1108.
54. Price MO, Mehta JS, Jurkunas UV, Price FW Jr. Corneal endothelial dysfunction: Evolving understanding and treatment options. *Prog Retin Eye Res.* 2021;82:100904.
55. Sayegh RR, Benetz BA, Lass JH. Specular microscopy. In: Mannis MJ, Holland EJ, editors. *Cornea.* 4th ed. Mosby: Elsevier Health Sciences; 2017. pp. 160–79.
56. Laing RA, Sandstorm MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch Ophthalmol.* 1979;97:1714–9.
57. Doughty MJ. Non-contact specular microscopy with Topcon instruments to assess central corneal thickness of healthy human eyes - A 20 year review. *Cont Lens Anterior Eye.* 2021;44(4):101385.
58. Sierra JS, Pineda J, Rueda D, Tello A, Prada AM, Galvis V, Volpe G, Millan MS, Romero LA, Marrugo AG. Corneal endothelium assessment in specular microscopy images with Fuchs' dystrophy via deep regression of signed distance maps. *Biomed Opt Express.* 2022;14(1):335–51.
59. Chaurasia S, Vanathi M. Specular microscopy in clinical practice. *Indian J Ophthalmol.* 2021;69(3):517–24.
60. Kus MM, Seitz B, Langenbacher A, Naumann GO. Endothelium and pachymetry of clear corneal grafts 15 to 33 years after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 1999;127(5):600–2.
61. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. *Cornea.* 2008;27(1):1–16.
62. Woodward MA, Edelhauser HF. Corneal endothelium after refractive surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(4):767–77.
63. Ciorba AL, Roiu G, Abdelhamid AM, Saber S, Cavalu S. Evaluation of the Corneal Endothelium Following Cataract Surgery in Diabetic and Non-Diabetic Patients. *Diagnostics (Basel).* 2023 15;13(6):1115.
64. Fernández-Muñoz E, Zamora-Ortiz R, Gonzalez-Salinas R. Endothelial cell density changes in diabetic and nondiabetic eyes undergoing phacoemulsification employing phaco-chop technique. *Int Ophthalmol.* 2019;39(8):1735–41.

65. Ciorba AL, Teusdea A, Roiu G, Cavalu DS. Particularities of Cataract Surgery in Elderly Patients: Corneal Structure and Endothelial Morphological Changes after Phacoemulsification. *Geriatrics (Basel)*. 2024;9(3):77.
66. Beato JN, Esteves-Leandro J, Reis D, Falcão M, Rosas V, Carneiro Â, Reis FF. Corneal structure and endothelial morphological changes after uneventful phacoemulsification in type 2 diabetic and nondiabetic patients. *Arq Bras Oftalmol*. 2021;84(5):454–61.
67. Petropoulos IN, Ponirakis G, Khan A, Gad H, Almuhammad H, Brines M, Cerami A, Malik RA. Corneal confocal microscopy: ready for prime time. *Clin Exp Optom*. 2020;103(3):265–77.
68. Yamaguchi T, Hamrah P, Shimazaki J. Bilateral Alterations in Corneal Nerves, Dendritic Cells, and Tear Cytokine Levels in Ocular Surface Disease. *Cornea*. 2016;35 Suppl 1(Suppl 1):S65–S70.
69. Tuominen IS, Konttinen YT, Vesaluoma MH, Moilanen JA, Helintö M, Tervo TM. Corneal innervation and morphology in primary Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(6):2545–9.
70. Cruzat A, Witkin D, Baniyasi N, Zheng L, Ciolino JB, Jurkunas UV, Chodosh J, Pavan-Langston D, Dana R, Hamrah P. Inflammation and the nervous system: the connection in the cornea in patients with infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(8):5136–43.
71. Kobayashi A, Yokogawa H, Higashide T, Nitta K, Sugiyama K. Clinical significance of owl eye morphologic features by in vivo laser confocal microscopy in patients with cytomegalovirus corneal endotheliitis. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(3):445–53.
72. Rosenberg ME, Tervo TM, Müller LJ, Moilanen JA, Vesaluoma MH. In vivo confocal microscopy after herpes keratitis. *Cornea*. 2002;21(3):265–9.
73. Hamrah P, Cruzat A, Dastjerdi MH, Zheng L, Shahatit BM, Bayhan HA, Dana R, Pavan-Langston D. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study. *Ophthalmology*. 2010;117(10):1930–6.
74. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*. 2003;76(5):521–42. Erratum in: *Exp Eye Res*. 2003;77(2):253.
75. Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *Ocul Surf*. 2017;15(1):15–47.
76. De Cillà S, Ranno S, Carini E, Fogagnolo P, Ceresara G, Orzalesi N, Rossetti LM. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(11):5155–8.
77. Zhivov A, Winter K, Hovakimyan M, Peschel S, Harder V, Schober HC, Kundt G, Baltrusch S, Guthoff RF, Stachs O. Imaging and quantification of subbasal nerve plexus in healthy volunteers and diabetic patients with or without retinopathy. *PLoS One*. 2013;8(1):e52157.
78. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Keratocyte density and recovery of subbasal nerves after penetrating keratoplasty and in late endothelial failure. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(12):1693–8.

79. *Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Corneal innervation and cellular changes after corneal transplantation: an in vivo confocal microscopy study. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007;48(2):621–6.*
80. *Huang J, Maram J, Tepelus TC, Sadda SR, Chopra V, Lee OL. Comparison of Noncontact Specular and Confocal Microscopy for Evaluation of Corneal Endothelium. Eye Contact Lens. 2018;44 Suppl 1:S144–S150.*
81. *Shukla AN, Cruzat A, Hamrah P. Confocal microscopy of corneal dystrophies. Semin Ophthalmol. 2012;27(5-6):107–16.*
82. *Ong Tone S, Jurkunas U. Imaging the Corneal Endothelium in Fuchs Corneal Endothelial Dystrophy. Semin Ophthalmol. 2019;34(4):340–6.*

VERNALNI IN FLIKTENSKI KERATOKONJUNKTIVITIS

Manca Tekavčič Pompe^{1, 2}

¹*Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana*

²*Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani*

IZVLEČEK

Prispevek obravnava dve najpogostejši stanji zaradi preobčutljivostne reakcije na očesni površini, pri katerih je prizadeta roženica – vernalni (VKK) in fliktenski (FK) keratokonjunktivitis. Stanji sta obravnavani z mislijo na klinika, ki se z njima srečuje in ju zdravi ter zaradi njunega kroničnega poteka in pogostih ponovitev tudi spremlja bolnika skozi daljše časovno obdobje. Prispevek zaokroži tabela z najpogostejšimi vprašanji, ki jih v zvezi s svojim stanjem zdravniku postavi bolnik.

Ključne besede: vernalni keratokonjunktivitis, fliktenski keratokonjunktivitis, otroci

VERNALNI KERATOKONJUNKTIVITIS

UVOD

Alergijski konjunktivitis

Vernalni keratokonjunktivitis je ena od oblik alergijskega, sicer najpogostejših vrst konjunktivitisa. 40 % splošne populacije je vsaj enkrat v življenju imelo simptome, značilne za alergijski konjunktivitis (obojestransko konjunktivalno draženo zrklo, ki ga pogosto spremljajo hemoza veznice, srbečica in voden izcedek). Trenutno velja delitev alergijskih konjunktivitisov v 6 podtipov: sezonski alergijski konjunktivitis, celoletni alergijski konjunktivitis, atopični keratokonjunktivitis, kontaktni blefarokonjunktivitis, gigantopapilarni konjunktivitis in vernalni keratokonjunktivitis (VKK) (1).

Roženica je najpogosteje prizadeta pri VKK.

VKK je kronični obojestranski keratokonjunktivitis, značilen za otroke. Običajno se pojavi v prvih 10 letih življenja, redkeje tudi pri odraslih (2, 3). Prevalenca VKK je po svetu izrazito raznolika (Etiopija 5–7 %, Egipt 3 %, Italija 0,27 %, Nizozemska 0,006–0,046 %), najvišjo incidenco pa opisujejo v afriških državah. Znano je, da se z oddaljenostjo od ekvatorja incidenca znižuje (4, 5, 6). VKK predstavlja enega izmed šestih podtipov očesnih alergij, a natančnega vzroka zanj še ne poznamo. Patogeneza VKK najverjetneje zajema kombinacijo okoljskih, imunoloških, genetskih in drugih dejavnikov (2).

Klinična slika VKK obsega srbečico, občutljivost na svetlobo, bel mukozni izcedek, solzenje, občutek tujka in bolečino ob prisotnosti roženičnega ulkusa. Za VKK značilni klinični znaki so Trantasove pege (skupki epitelnih celic in eozinofilcev), gigantske papile na zgornji tarzalni veznici, ki dajejo videz tlakovca, ter ščitasti roženični ulkus (*angl.* shield ulcer) (7). Ostali znaki so hiperemija veznice, želatinozni infiltrati ob limbusu, neovaskularizacija roženice in pseudogerontokson (8). VKK delimo na tri tipe: tarzalni, limbalni in mešani. Značilnost tarzalnega VKK so papile tarzalne veznice zgornje veke. Značilnost limbalnega VKK so želatinozni infiltrati (infiltrate sestavljajo limfociti, plazmatke, makrofagi, bazofilci, eozinofilci in čašaste celice veznice) in Trantasove pege (beli nodusi, ki jih sestavljajo eozinofilci in epitelni debris) na limbusu ter punktatni keratitis in ulkusa roženice. Značilnost mešanega VCC je sočasna prizadetost roženice in tarzalne veznice.

Kljub temu, da VKK navadno izzveni po puberteti, lahko vodi v nepopravljivo okvaro vidne ostrine, če zdravljenje ni pravočasno in zadostno. Bolniki z VKK zaradi pogoste uporabe lokalnih kortikosteroidnih kapljic v 5–30 % razvijejo sivo mreno in/ali glavkom (2). Zdravljenje VKK obsega več različnih zdravil. Blage oblike bolezni zdravimo z antihistaminskimi kapljicami, stabilizatorji mastocitov, inhibitorji eozinofilcev in kratkimi cikli nižje potentnih lokalnih kortikosteroidov. Težje oblike pogosto zahtevajo daljše cikle visoko potentnih lokalnih kortikosteroidov in/ali imunomodulatorno zdravljenje s ciklosporinom ali tacrolimusom v obliki očesnih pripravkov (7).

Epidemiologija

VKK se najpogosteje pojavi pri otrocih med 4. in 7. letom starosti, a so opisani tako primeri začetka bolezni pri dojenčku kot tudi pri odraslem. Navadno izzveni po puberteti (2). Najpogosteje prizadene mlade fante v predelih sveta s suhim in vročim podnebjem. Pojavi se lahko izolirano ali v kombinaciji s katero izmed ostalih vrst očesne alergije. V anglosaški literaturi se uporablja izraz »VKC-like« in opisuje pojav klinične slike VKK z začetkom po puberteti. Odrasla oblika VKK ima manj roženičnih zapletov, pojavi pa se difuzna zadebelitev in fibroza tarzalne veznice brez gigantskih papil (9).

Etiopatogeneza

1. Okoljski dejavniki

Pri nastanku VKK imajo pomembno vlogo številni dejavniki okolja, kot so prah, pelod, ultravijolična svetloba, veter itd. Veznica zaradi prekomerne izpostavljenosti različnim dejavnikom okolja postane hiperreaktivna in vnetje se hitreje in izdatneje ojača (10).

2. Imunološki dejavniki

V patogenezi VKK imajo pomembno vlogo IgE, ne-IgE in nespecifični preobčutljivostni odzivi. Preobčutljivostni odziv, ki ga omogočata IgE in mastocit, lahko pri bolnikih z VKK dokažemo z višjimi serumskimi koncentracijami eozinofilnega kationskega proteina, ECP (*angl.* eosinophil cationic protein), IgE, višjim številom eozinofilcev v krvi in povečanim številom mastocitov v veznici (11). Povezava z ostalimi alergijskimi boleznimi, kot sta alergijski rinitis in astma, prav tako podpira pomen vloge z IgE povezane preobčutljivostne reakcije pri VKK. Kljub temu so alergijski kožni testi pozitivni le pri 50 % bolnikih z VKK (12). Čeprav je znano, da ima IgE preobčutljivostna reakcija pomembno vlogo, pa nimajo vsi bolniki z VKK pozitivnih kazalnikov IgE, niti ne opažajo sezonskega poslabšanja bolezni, zato imajo preobčutljivostni odzivi, ki niso povezani z IgE, prav tako pomembno vlogo. Celice, ki se aktivirajo pri VKK, so mastociti, T-celice, eozinofilci, bazofilci in makrofagi. Eozinofilci so odgovorni za številne zaplete v povezavi z VKK, saj v aktivni fazi bolezni predstavljajo 50–90 % celic v

solzah. Izločajo encime, ki so toksični za roženični epitel, in najverjetneje imajo pomembno vlogo pri patogenezi VKK (2).

3. Genetski dejavniki

Za pomembno vlogo genetike pri patogenezi VKK ima predvsem višja incidenca VKK med pripadniki določene narodnostne skupine, ki je migrirala v drugo geografsko področje, kjer je sicer incidenca VKK nizka. Genetika naj bi imela pomembno vlogo pri povečanem kopičenju eozinofilcev v krvi, solzah in na veznici ter pri višji ekspresiji mediatorjev vnetja in citokinov (13).

4. Ostali dejavniki

Pri bolnikih z VKK so v solzah in serumu dokazali višje vrednosti različnih neuropeptidov in nevro rastnih faktorjev (substancia P, SP; *angl.* nerve growth factor, NGF), ki pospešujejo degranulacijo mastocitov, njihovo migracijo in spodbujajo citotoksično aktivnost eozinofilcev (14). Pri bolnikih z VKK so na vzorcih tarzalne veznice dokazali tudi spremenjeno izraženost receptorjev za neurotransmitorje in nevro modulatorje ter receptorje za estrogen in progesteron (15).

Klinične značilnosti

VKK je kronična obojestranska alergijska bolezen očesne površine, ki pogosteje prizadene fante v prvi desetih letih starosti. Večja pojavnost VKK pri fantih z naraščajočo starostjo pada. VKK po puberteti praviloma izzveneva. Izraz »vernalni«, ki se nanaša na »spomladanski«, je zavajajoč, saj je približno četrtnina bolnikov z VKK simptomatskih skozi celo leto. Približno 15 % bolnikov s sezonsko obliko VKK z leti razvije težave, ki so prisotne celo leto (16).

1. Simptomi

Simptomi, ki so prisotni pri VKK, so srbečica, občutljivost na svetlobo, mukozni izcedek, solzenje, rdeče oči in občutek tujka. Včasih je srbečica tako močna, da otroku izrazito otežuje vsakodnevne aktivnosti, pogosto jo poslabšajo vetrovno vreme, prah, močna svetloba in vročina. Zjutraj so veke zlepljene, prisotno je solzenje, vlecljiv belkast izcedek. Izrazita občutljivost

na svetlobo, bolečina in občutek tujka so značilni simptomi ob prizadetosti roženice.

2. Znaki

Najznačilnejši znak VKK je papilarna hiperplazija, ki tipično zajema zgornjo tarzalno veznico in limbus. Papile so velike 0,1–5 mm, s sploščenim vrhom. Histopatološko predstavljajo hiperplazijo vezničnega epitela s fibrovaskularnim strženom in prisotnostjo eozinofilcev, mastocitov in nevtrofilcev, ki jih sicer v zdravi veznici ne najdemo. Kadar so papile večje od 1 mm, jih imenujemo gigantske. Skupek takih papil na tarzalni veznici spominja na tlakovec (od tod izraz v anglosaški literaturi »*cobblestone appearance*«). Pri hujših oblikah VKK zaradi izrazitih papil tarzalne veznice lahko pride do mehanske ptoze zgornje veke. Kadar se na zgornji vekki začnejo tvoriti pseudomembrane, to imenujemo Maxwell Lyonov znak. Za limbalno obliko VKK so značilni želatinozni skupki papil na limbusu, ki imajo pogosto na vrhu bel izloček iz eozinofilcev in epitelnih celic, ki jih imenujemo Trantasove pege. Pogosto so povezane s povhjno neovaskularizacijo roženice. V povrhnji roženični stromi se kopiči sivkasto bel lipidni depozit, ki se imenuje pseudogerontoxon.

Kadar je prizadeta roženica, gre navadno za izrazito in napreduvalno obliko VKK. Roženična prizadetost se pogosto začne z drobnimi točkastimi erozijami, ki hitro napredujejo v epitelopatijo in makroerozije, če ne zdravimo takoj in izdatno. Prizadetost epitela se širi do Bowmanove plasti, tvori se ulkus. Odlaganje fibrina in mukoze v ulkus spodbuja nastanek belkastega plaka, ki preprečuje reepitelizacijo in spodbuja neovaskularizacijo roženice (17).

Klasifikacija

Glede na del veznice, ki je pretežno prizadet, delimo VKK na tri tipe: tarzalni, limbalni in mešani.

Tarzalni (palpebralni) tip VKK je pogostejši v Evropi in ZDA. Papile se pojavijo na tarzalni veznici zgornje veke, pogost je izgled tlakovca (slika 1).

Limbalni (bulbarni) tip VKK je pogostejši v Aziji in Afriki. Papile se najpogosteje pojavijo na bulbarni veznici, značilen je pojav Trantasovih peg na zgornjem limbusu (slika 1).

Mešani tip VKK je najpogostejši v Indiji in drugih delih sveta v tropskem pasu, kjer predstavlja kar 70 % vseh oblik VKK. Klinična slika zajema kombinacijo tarzalnega in limbalnega VKK.



Slika 1: Gigantske papile tarzalne veznice zgoraj (levo) in Trantasove pege na limbusu zgoraj (desno). Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKC LJ.

Ocena resnosti bolezni

Ocena resnosti oz. napredovalosti VKK je pomembna tako za klinike, ki se odločajo o vrsti zdravljenja, kot tudi na področju poenotene znanstvene komunikacije.

Klinično se najpogosteje uporablja lestvica VKK po Boniniju (18), v kateri se bolezen rangira po resnosti od 0 do 5 glede na klinične simptome in znake (hiperemija veznice, veznični izcedek, papilarna reakcija, Trantasove pege, prizadetost roženice). Vsak izmed znakov je točkovano glede na resnost z 0 – odsoten, 1 – blago izražen, 2 – srednje izražen in 3 – močno izražen. Nekoliko manj kompleksna je VKK-klasifikacija resnosti bolezni po Gokhaleju (19), ki upošteva resnost izraženih kliničnih znakov in pogostost pojavljanja simptomov.

Napredovanje VKK je mogoče oceniti tudi z lestvico 5-5-5, ki je bila sicer predlagana za oceno vseh alergijskih konjunktivitisov in v relativno kompleksnem točkovanju upošteva vse klinične znake VKK (20).

Preiskave

Diagnozo VKK navadno postavimo klinično, na podlagi bolnikovih simptomov in znakov. Večina bolnikov v našem prostoru sicer opravi alergološko testiranje, a rezultati niso diagnostičnega pomena. Imunoloških testov ne opravljamo rutinsko, smiselni so v raziskovalne namene. Pri bolnikih z napredovalim VKK je smiselno letno spremljanje roženične topografije, saj ima približno tretjina bolnikov z VKK topografske spremembe roženice, keratokonus pa se razvije pri približno 15 % (11).

Zapleti

Najpogostejši zapleti VKK so ščitasti ulkus roženice (*angl.* shield ulcer), keratokonus, suho oko, pomanjkanje limbalnih zarodnih celic in mehanska ptoza zgornje veke.

1. Ščitasti ulkus roženice

Roženica je prizadeta pri približno 50 % bolnikov s tarzalnimi VKK (16). Najpogosteje je prisotna keratopatija, sledita ščitasti ulkus (slika 2), do katerega pride pri 3–11 % (21) in neovaskularizacija. Roženični ulkus je potencialno vidu ogrožujoči zaplet VKK. Prepozno zdravljenje in upočasnjeno celjenje povzročita pospešeno brazgotinjenje in vaskularizacijo. Poveča se tudi nevarnost keratitisa, zaradi starostne skupine večine bolnikov pa ima pomembno vlogo pri slabši vidni ostrini tudi ambliopija. Za razvoj ulkusa sta pomembna dva dejavnika: mehanični (papile mehanično povzročajo abrazijo roženičnega epitela) in kemični (eozinofilci sproščajo kemične mediatorje, ki okvarijo epitel in preprečujejo celjenje). Ščitasti ulkus roženice lahko natančneje opišemo z lestvico po Cameronu, ki upošteva klinične značilnosti, odziv na zdravljenje in zplete (22).



Slika 2: Ščitasti ulkus roženice kot posledica mehanskega vpliva gigantskih papil tarzalne veznice zgoraj in kemičnih mediatorjev, ki jih sproščajo eozinofilci in okvarijo epitel roženice. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKCLJ.

2. Keratokonus

Prevalenca keratokonusa med bolniki z VKK se razlikuje glede na geografsko področje. V Indiji je približno 6-odstotna, v Evropi pa manj kot 1-odstotna (23). Keratokonus povezujejo s pogostim mencanjem oči pri otrocih z VKK.

3. Suho oko

Suhe oči so pogost zaplet pri bolnikih z VKK. Značilen je kratek razpolovni čas solz (*angl.* tear breakup time, TBUT), ki je posledica kroničnega vnetja, spremenjene mucinske plasti solznega filma, propada meibomovih žlez in manjšega števila roženičnih živčnih končičev (24). Zdravljenje suhega očesa mora potekati simultano z zdravljenjem VKK.

4. Pomanjkanje limbalnih zarodnih celic

Incidenca pomanjkanja limbalnih zarodnih celic pri bolnikih z VKK je okrog 1 % (25). Vzrok zanjo je kronično vnetje v predelu limbusa in neposreden toksičen vpliv produktov eozinofilcev in ostalih vnetnih celic (25).

5. Pridobljena ptoza zgornje veke

Zaradi dolgotrajnega hudega vnetja v predelu zgornje veke in pogostega mencanja lahko pride do dezinsercije mišice levator palpebrae superioris.

Večina ptoz zgornje veke je mehanske narave in lahko popolnoma izzveni z zdravljenjem VKK (26).

Zdravljenje

Zdravljenje VKK je zahtevno. Akutna faza bolezni je sicer lahko pod nadzorom s stabilizatorji mastocitov in/ali lokalnimi kortikosteroidi, a je zahtevnost zdravljenja v preprečevanju ponovitev in njihovih zapletov. Pomemben del zdravljenja je zato tudi izobraževanje bolnikov in njihovih staršev o kronični in ponavljajoči se naravi bolezni.

Večino VKK lahko zdravimo samo z lokalnim zdravljenjem v obliki očesnih kapljic. Sem sodijo antialergijska zdravila (antihistaminiki, stabilizatorji mastocitov in zdravila z dvojnimi delovanjem, npr. ketotifen, olopatadine, azelastine), nesteroidni antirevmatiki, umetne solze in kortikosteroidi (KKS). Lokalne KKS delimo na nizko (0,1% florometolon acetat (*Flarex*®), 0,5% loteprednol etabonat (*Lotemax*®), 0,3% hidrokortizon natrijev fosfat (*Softacort*®) in 1% rimexolon), in visoko potentne (1% prednizolon fosfat, 0,1% deksametazon natrijev fosfat (*Maxidex*®, *Dexamono*®), 0,5% prednizolon pivalat (mazilo *Ultracortenol*®), 0,05% difluprednat in 0,1% natrijev betametazon). Visoko potentni lokalni KKS imajo močnejši protivnetni učinek, obenem pa so povezani z višjim deležem stranskih učinkov (razvoj sive mreže in glavkoma), zato jih vedno uporabljamo šele ob nezadovoljivem učinkovanju nizko potentnih lokalnih KKS.

V primeru težjih oblik tarzalnega VKK pride v poštev tudi supratarzalna injekcija kortikosteroida (uporablja se triamcinolone acetone v dozi 10–20 mg), ki ga injiciramo 0,5–1,0 mm nad zgornji rob veke v predel med veznico in Müllerjevo mišico (27).

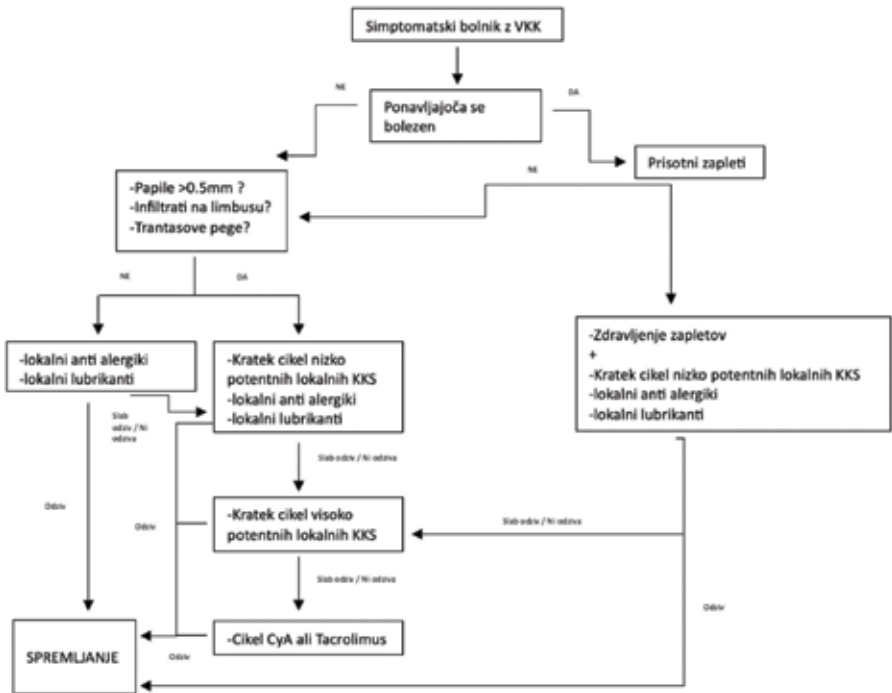
Za zdravljenje trdovratnega VKK uporabljamo tudi ciklosporin A (CyA), ki je komercialno na voljo v koncentracijah 0,05 % in 0,1 % (*Ikervis*®), možna pa je lekarniška priprava 1% CyA. CyA je imuno modulatorno zdravilo, ki blokira limfocite Th2 in tvorbo IL-2, inhibira pa tudi sproščanje histamina. Zdravilo predstavlja odlično alternativo dolgotrajnemu zdravljenju z lokalnimi kortikosteroidi, apliciramo ga 1–2-krat dnevno (28).

Tacrolimus je po načinu delovanja podoben CyA, na voljo je v obliki očesnega mazila v koncentracijah 0,03 % in 0,1 %, ki ga pripravijo v lekarni.

Navadno zadošča aplikacija 1-krat zvečer. Uporabljamo ga za napredovale oblike VKK in ne kot prvo zdravilo izbora.

Poleg lokalnega zdravljenja je za nekatere zaplete VKK uporabno tudi kirurško zdravljenje. Gigantske papile lahko zaradi roženične prizadetosti kirurško odstranimo, a je ponovitev zelo pogosta (29), opisano pa je tudi zdravljenje papil z laserjem CO2 (30). Kirurško zdravljenje je indicirano tudi za ščitaste ulkuse roženice, ki jih z lokalnim zdravljenjem ne uspemo pozdraviti. Cilj je omogočiti reepitelizacijo roženice s preprečevanjem neposredne mehanične poškodbe z gigantskimi papilami, kar lahko dosežemo tudi z debridmentom ali površinsko keratektomijo in prišitjem amnijske membrane (31). Pomembno vlogo pri zdravljenju ščitastega ulkusa roženice imajo tudi terapevtske kontaktne leče, ki lahko predstavljajo bariero med papilami tarzalne veznice in roženičnim epitelom. Sistemsko zdravljenje VKK praviloma ni potrebno, opisani pa so uspešni primeri zdravljenja trdovratnih oblik bolezni s sistemskim ciklosporinom.

V diagramu (slika 3) je prikazan algoritem obravnave bolnikov z VKK. Diagram je prirejen po Singhal et al. (32).



Slika 3: Diagram obravnave bolnika z VVK (prirejeno po Singhal et al., 2018).

Razlaga kratic: VVK – vernalni keratokonjunktivitis, KKS – kortikosteroidi, CyA – ciklosporin A

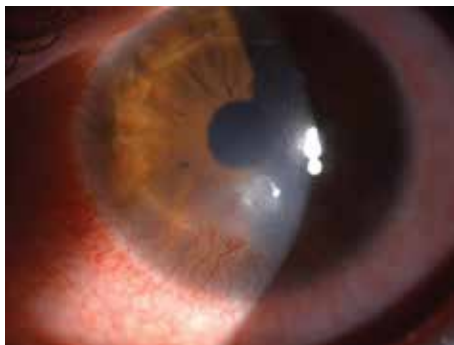
FLIKTENSKI KERATOKONJUNKTIVITIS

UVOD

Fliktenski keratokonjunktivitis (FK) je vnetna bolezen očesne površine, ki je v večini primerov povezana z meibomitom in blefaritisom (33, 34). Težje oblike FK so zaradi prizadetosti vidne osi ali izrazitega iregularnega astigmatizma lahko tudi potencialno ogrožajoče za vid (35). FK je svoje ime dobil po fliktenu, ki je majhen bel polimorfen skupek levkocitov z defektom roženičnega epitela nad njim (slika 4). Do roženične fliktene pogosto vodi

neovaskularizacija, fliktena se lahko sčasoma spremeni v brazgotino, roženica pa je na tem mestu stanjšana.

Vzrok za nastanek FK je pozna preobčutljivost na bakterijske beljakovine. Bolezen je praviloma kronična in poteka v zagonih. Zdravljenje zajema enak stopenjski pristop, kot ga uporabljamo pri blefarokeratokonjunktivitisu, in mora bitu usmerjeno k zmanjševanju vnetja robov vek. Bolnike in starše moramo opozoriti predvsem na kronično naravo bolezni in potrebo po redni higieni robov vek, da se poskušamo izogniti ponovnemu nastanku roženičnih flikten. Pri zdravljenju akutne fliktene imajo pomembno vlogo lokalni kortikosteroidi, zaradi rekurentnosti FK pa tudi imunosupresivna zdravila za lokalno uporabo (npr. Tacrolimus, Ciklosporin A) (36).



Slika 4: Roženična fliktena z defektom roženičnega epitela nad njo in neovaskularizacijo roženice. Vir: Dokumentacija Očesne klinike UKCLJ.

Epidemiologija

FK je bil pred letom 1950 zaradi visoke incidence tuberkuloze pretežno povezan s preobčutljivostjo na beljakovino tuberkulin. Značilen bolnik s FK v tistem obdobju je bil slabo prehranjen otrok s pozitivnim kožnim tuberkulinskim testom (37). Trenutno je v Evropi in ZDA glavni vzrok za FK toksin *Staphylococcus aureus* (38). FK je najpogostejši med otroki, starimi od 6 mesecev do 16 let, pogosteje so prizadete deklice, incidenca pa je višja spomladi (39).

Etiopatogeneza

FKK se razvije sekundarno po alergijski preobčutljivostni reakciji roženice ali veznice, ki nastopi po ponovni izpostavljenosti infektivnemu antigenu, s katerim je bil gostitelj že predhodno senzibiliziran. FK je najpogosteje povezan z antigenoma *Staphylococcus aureus* in *Mycobacterium tuberculosis*, a je opisana povezava tudi s *Herpes simplex*, *Clamidia*, *Streptococcus viridans* in nekaterimi črevesnimi paraziti (40).

V patogenezi FK imajo pomembno vlogo T-celice pomagalke, pa tudi citotoksični T-limfociti, monociti in Langerhansove celice, kar potrjuje pozno preobčutljivostno reakcijo. Podobna vrsta IV. preobčutljivostne reakcije je prisotna tudi pri rozacei, ki je pogostejša pri bolnikih s FK v primerjavi s splošno populacijo. FK je povezan tudi z višjo incidenco alergijskih bolezni in astme, kar potrjuje spremenjen imunski odziv, ki verjetno ima pomembno vlogo pri patogenezi bolezni (41).

Klinične značilnosti

Prisotnost roženične fliktene je pogosto povezana z bolečino in občutljivostjo na svetlobo, ki je izrazitejša pri FK, povezanim s tuberkulozo, v primerjavi s *Staph aureus*. Pojav vezničnih flikten (želatinozen nodus z izrazito draženo okolno veznico) je najpogostejši v interpalpebralnem področju in ob limbusu. Roženične fliktene se pogosto pojavijo na periferiji roženice 1–2 mm od limbusa in se sčasoma spremenijo v roženično razjedo z neovaskularizacijo.

Diagnozo postavimo na podlagi kliničnega pregleda. Včasih je treba opraviti dodatne preiskave za potrditev pravega infektivnega vzroka (npr. test za tuberkulozo QuantiFERON, intraepitelni bris veznice za preiskave na klamidijo itd.).

Zapleti

Roženične fliktene pogosto vodijo v nastanek roženičnega ulkusa, lahko pride do keratolize, neovaskularizacije, brazgotinjenja, stanjšanja roženice na mestu brazgotine, razvoja izrazitega iregularnega astigmatizma in poslabšanja vidne ostrine. Perforacija roženice je redek zaplet (42).

Zdravljenje

Zdravimo v smeri zniževanja vnetnega odziva z lokalnimi kortikosteroidi. Ker je bolezen kronična, se pogosto ponavlja, in ker imajo lokalni kortikosteroidi ob dolgotrajni in pogosti rabi lahko neželene stranske učinke (razvoj sive mreže, glavkoma itd.), se pri napredovalni rekurentni bolezni uporabljajo tudi lokalna imunosupresivna zdravila, kot sta Ciklosporin A (0,1% CyA Ikervis apliciramo 1–2-krat dnevno) in Tacrolimus (v obliki očesnega mazila v koncentracijah 0,03 % in 0,1 %, ki ga pripravijo v lekarni, aplikacija 1-krat zvečer) (36).

Poleg zniževanja vnetnega odziva je pomembno tudi zniževanje vira antigena, ki sproži vnetje. Zdravimo blefaritis (nega robov vek s suhim gretjem in čistilnimi robčki), vnetje robov vek (lokalni antibiotik, npr. mazilo chloramphenicol po robovih vek), rozaceo, če je prisotna (s sistemskim antibiotikom: eritromicin do 8. leta starosti, nato doxyciklin), klamidijsko okužbo, če je dokazana (sistemski azitromicin), idr.

ZAKLJUČEK

Predstavljeni sta bili dve najpogostejši stanji zaradi preobčutljivostne reakcije na očesni površini, pri katerih je prizadeta roženica – vernalni (VKK) in fliktenski (FK) keratokonjunktivitis. Prispevek zaključuje tabela, ki podaja odgovore na najpogostejša vprašanja bolnikov o posameznem stanju.

Tabela 1: Primerjava vernalnega keratokonjunktivitisa (VKK) in fliktenskega keratokonjunktivitisa (FK) z bolnikovega zornega kota. Podani so odgovori na najpogosteje zastavljena vprašanja.

Vprašanje	Vernalni keratokonjunktivitis	Fliktenski keratokonjunktivitis
Kaj je glavni vzrok bolezni?	Kronična oblika očesne alergije. Natančen vzrok še ni znan, udeleženi pa so okoljski, imunološki in genetski dejavniki.	Preobčutljivost na bakterijske toksine, najpogosteje na toksin <i>Staphylococcus aureus</i> .
Ali lahko pride do trajne okvare vida?	Če stanja ne prepoznamo in ustrezno ne zdravimo, lahko pride do brazgotinjenja roženice in trajne okvare vida.	Če stanja ne prepoznamo in ustrezno ne zdravimo, lahko pride do brazgotinjenja roženice in trajne okvare vida.
Kako se postavi diagnoza?	Pregled pri oftalmologu pokaže značilne znake na tarzalni veznici zgornje veke in na očesni površini.	Pregled pri oftalmologu, na špranski svetilki, odvzem brisa veznice in/ali roženice, včasih sistemske preiskave za izključitev npr. tuberkuloze.
Kako zdravite bolezen?	Blažje oblike z antialergijskimi kapljicami, težje pa s protivnetnimi in celo z imunosupresivnimi očesnimi pripravki.	Antibiotiki, protivnetna zdravila, zdravljenje možnih sistemskih vzrokov ter simptomatsko zdravljenje.
Je stanje nalezljivo?	Stanje ni nalezljivo.	Stanje ni nalezljivo, lahko pa je nalezljiva bakterijska okužba, ki je privedla do njega.
Koliko časa traja, da se stanje pozdravi?	Akutno poslabšanje stanja se ob ustreznem zdravljenju hitro izboljša, težave pri bolezni so kroničen potek in ponovitve.	Stanje se izboljša že po nekaj tednih ustreznega zdravljenja, a je popolna ozdravitev odvisna od vzroka.
Ali se stanje lahko ponovi?	Stanje se pogosto ponavlja.	Lahko, še posebej, če vzrok ni bil odkrit in ustrezno zdravljen.
Ali sprememba življenjskega sloga lahko prepreči ponovitev stanja?	Izogibanje situacijam, ki sprožijo ali poslabšajo stanje.	Zdravljenje kroničnih stanj, vzdrževanje dobre očesne higijene in redne kontrole pri oftalmologu lahko preprečijo stanje.
Kaj moram storiti, kadar posumim na ponovitev stanja?	Opravite pregled pri oftalmologu.	Opravite pregled pri oftalmologu.
Ali se stanje lahko razvije tudi pri otrocih?	Da. Pogosto.	Da. Pogosto.

LITERATURA

1. Singh K, Axelrod S, and Bielory L. The epidemiology of ocular and nasal allergy in the United States, 1988-1994. *J Allergy and Clin Immunol.* 2010;126(4):778-83.
2. Kumar S. Vernal keratoconjunctivitis: a major review. *Acta Ophthalmol.* 2009;87:133-47.
3. Di Zazzo A, Bonini S, Fernandes M. Adult vernal kerato-conjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2020;20(5):501-6.
4. Alemayehu AM, Yibekal BT, Fekadu SA. Prevalence of vernal keratoconjunctivitis and its associated factors among children in Gambella town, southwest Ethiopia, June 2018. *PLoS One.* 2019;18;14(4):e0215528.

5. Marey HM, Mandour SS, El Morsy OA, Farahat HG, Shokry SM. Impact of vernal keratoconjunctivitis on school children in Egypt. *Semin Ophthalmol*. 2017;32(5):543–9.
6. Bremond-Gignac D, Donadieu J, Leonardi A, Pouliquen P, Doan S, Chiambarretta F, et al. (2008) Prevalence of vernal keratoconjunctivitis: a rare disease. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(8):1097–102.
7. Bonini S, Sacchetti M, Mantelli F, Lambiase A. Clinical grading of vernal keratoconjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7(5):436–41.
8. Jeng BH, Whitcher JP, Margolis TP. Pseudogerontoxon. *Clin Exp Ophthalmol*. 2004;32(4):433–4.
9. Leonardi A, Castegnaro A, Valerio ALG, Lazzarini D. Epidemiology of allergic conjunctivitis: clinical appearance and treatment patterns in a population based study. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015;15(5):482–8.
10. Hayilu D, Legesse K, Lakachew N, Asferaw M. Prevalence and associated factors of vernal keratoconjunctivitis among children in Gondar city, Northwest Ethiopia. *BMC Ophthalmol*. 2016;16(1):167.
11. Leonardi A. Vernal keratoconjunctivitis: pathogenesis and treatment. *Prog Retin Eye Res*. 2002;21(3):319–39.
12. Pucci N, Novembre E, Lombardi E, et al. Atopy and serum eosinophil cationic protein in 110 white children with vernal keratoconjunctivitis: differences between tarsal and limbal forms. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2003;33(3):325–30.
13. Bonini S, Bonini S, Lambiase A, et al. Vernal keratoconjunctivitis: a model of 5q cytokine gene cluster disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;107(1–3):95–8.
14. Lambiase A, Bonini S, Micera A, et al. Increased plasma levels of substance P in vernal keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(10):2161–4.
15. Bonini S, Lambiase A, Schiavone M, Centofanti M, Palma LA, Bonini S. Estrogen and progesterone receptors in vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 1995;102(9):1374–9.
16. Bonini S, Bonini S, Lambiase A, et al. Vernal keratoconjunctivitis revisited: a case series of 195 patients with long-term followup. *Ophthalmology*. 2000;107(6):1157–63.
17. De Smedt S, Wildner G, Kestelyn P. Vernal keratoconjunctivitis: an update. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(1):9–14.
18. Bonini S, Sacchetti M, Mantelli F, Lambiase A. Clinical grading of vernal keratoconjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7(5):436–41.
19. Gokhale NS. Systematic approach to managing vernal keratoconjunctivitis in clinical practice: Severity grading system and a treatment algorithm. *Indian J Ophthalmol*. 2016;64(2):145–8.
20. Shoji J, Inada N, Sawa M. Evaluation of novel scoring system named 5-5-5 exacerbation grading scale for allergic conjunctivitis disease. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol*. 2009;58(4):591–7.
21. Bonini S, Coassin M, Aronni S, Lambiase A. Vernal keratoconjunctivitis. *Eye Lond Engl*. 2004;18(4):345–51.
22. Cameron JA. Shield ulcers and plaques of the cornea in vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 1995;102(6):985–93.

23. Caputo R, Versaci F, Pucci N, et al. Very Low Prevalence of Keratoconus in a Large Series of Vernal Keratoconjunctivitis Patients. *Am J Ophthalmol.* 2016;172:64–71.
24. Han SB, Yang HK, Hyon JY, Hwang J-M. Children with dry eye type conditions may report less severe symptoms than adult patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013;251(3):791–6.
25. Saboo US, Basu S, Tiwari S, Mohamed A, Vemuganti GK, Sangwan VS. Clinical and Cytologic Evidence of Limbal Stem Cell Deficiency in Eyes With Long Standing Vernal Keratoconjunctivitis. *Asia-Pac J Ophthalmol Phila Pa.* 2013;2(2):88–93.
26. Griffin RY, Sarici A, Unal M. Acquired ptosis secondary to vernal conjunctivitis in young adults. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2006;22(6):438–40.
27. Costa AX da, Gomes JÁP, Marculino LGC, Liendo VL, Barreiro TP, Santos MSD. Supratarsal injection of triamcinolone for severe vernal keratoconjunctivitis in children. *Arq Bras Oftalmol.* 2017;80(3):186–8.
28. Keklikci U, Dursun B, Cingu AK. Topical cyclosporine a 0.05% eyedrops in the treatment of vernal keratoconjunctivitis - randomized placebo-controlled trial. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ.* 2014;23(3):455–61.
29. Tanaka M, Takano Y, Dogru M, et al. A comparative evaluation of the efficacy of intraoperative mitomycin C use after the excision of cobblestone-like papillae in severe atopic and vernal keratoconjunctivitis. *Cornea.* 2004;23(4):326–9.
30. Belfair N, Monos T, Levy J, Mnitentag H, Lifshitz T. Removal of giant vernal papillae by CO2 laser. *Can J Ophthalmol J Can Ophthalmol.* 2005;40(4):472–6.
31. Reddy JC, Basu S, Saboo US, Murthy SI, Vaddavalli PK, Sangwan VS. Management, clinical outcomes, and complications of shield ulcers in vernal keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol.* 2013;155(3):550–9.
32. Singhal D, Sahay P, Maharana PK, Raj N, Sharma N, Titiyal JS. Vernal Keratoconjunctivitis. *Surv Ophthalmol.* 2019;64(3):289–311.
33. Suzuki T, Teramukai S, Kinoshita S. Meibomian glands and ocular surface inflammation. *Ocul Surf.* 2015;13:133–49.
34. Suzuki T. Meibomitis-related keratoconjunctivitis: implications and clinical significance of meibomian gland inflammation. *Cornea.* 2012;31(suppl 1):S41–S44.
35. Jo DH, Kim MK, Wee WR, et al. Analysis of clinical characteristics in phlyctenular keratoconjunctivitis at a tertiary center. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2011;52:7–13.
36. Yoon, C. H., Kim, M. K., & Oh, J. Y. Topical Tacrolimus 0.03% for Maintenance Therapy in Steroid-Dependent, Recurrent Phlyctenular Keratoconjunctivitis. *Cornea.* 2018;37(2):168–71.
37. Thygeson P. The etiology and treatment of phlyctenular keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol.* 1951;34(9):1217–36.
38. Rohatgi J, Dhaliwal U. Phlyctenular eye disease: a reappraisal. *Jpn J Ophthalmol.* 2000;44(22):146–50.
39. Beauchamp GR, Gillette TE, Friendly DS. Phlyctenular keratoconjunctivitis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1981;18(3):22–8.
40. Juberias RJ, Calonge M, Montero J, Herreras JM, Saornil AM. Phlyctenular keratoconjunctivitis a potentially blinding disorder. *Ocul Immunol Inflamm.* 1996;4(2):119–23.

41. Neiberg MN, Sowka J. Phlyctenular keratoconjunctivitis in a patient with Staphylococcal blepharitis and ocular rosacea. *Optometry*. 2008;79(3):133–7.
42. Culbertson WW, Huang AJ, Mandelbaum SH, Pflugfelder SC, Boozalis GT, Miller D. Effective treatment of phlyctenular keratoconjunctivitis with oral tetracycline. *Ophthalmology*. 1993;100(9):1358–66.

CELOSTNA OBRAVNAVA BOLNIKA S KERATOKONUSOM

Ana Gornik¹, Lea Kovač¹

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

IZVLEČEK

S keratokonusom, ki je nekdanj veljal za redko bolezen, se v vsakdanji praksi srečujemo vse pogosteje. Napredki v diagnostiki in obravnavi bolnikov s keratokonusom omogočajo boljše prepoznavanje keratokonusa v populaciji in pravočasno zaznavo napredovanja. S križnim povezovanjem kolagenskih vlaken z ultravijolično svetlobo uspešno preprečujemo nadaljnje napredovanje in posledične zaplete keratokonusa, kot so hidrops in brazgotinske spremembe roženice. Razvoj v oblikovanju in materialih poltrdih kornealnih in skleralnih kontaktnih leč omogoča bolnikom z začetnim in zmernim keratokonusom izboljšanje različnih aspektov kakovosti vida: izboljšanje vidne ostrine, barvnega in perifernega vida in zmanjšanje roženičnih aberacij. Pri manjšini bolnikov je potrebna presaditev roženice- najpogostejša izbira je sprednja delna presaditev roženice, ki ima boljše vidne izhode in daljše preživetje presadkov z manj med- in kooperativnimi zapleti v primerjavi s presaditvijo celotne debeline.

Ključne besede: keratokonus, tomografija, križno povezovanje kolagenskih vlaken, hidrops roženice, keratoplastika

UVOD

Keratokonus je ektatična bolezen roženice, ki se pojavlja pri mlajši populaciji (otročih in najstnikih). Napredki v slikovnih metodah – tomografiji, aberometriji in OCT roženice omogočajo pravočasno odkrivanje in zdravljenje bolnikov s keratokonusom. Pri večini lahko z ustreznim in pravočasnim neinvazivnim zdravljenjem – križnim povezovanjem kolagenskih vlaken (*angl.* crosslinking, CXL) izboljšamo vid in preprečimo

napredovanje bolezni. Poltrde kontaktne leče so najpomembnejši pripomoček za izboljšanje vida pri bolnikih z napredovalo stopnjo bolezni, napredki v materialih in oblikovanju poltrdih kornealnih kontaktnih leč in uporaba skleralnih leč pa omogočajo večjo toleranco kontaktnih leč. Široka izbira različnih bolj ali manj invazivnih kirurških tehnik v zadnjih desetletjih omogoča boljše izhode vidne ostrine pri bolnikih s keratokonusom.

DEFINICIJA

Keratokonus je obojestranska in asimetrična bolezen roženice, pri kateri pride do progresivnega tanjšanja in bočenja roženice, ki vodi v višji in nepravilni roženični astigmatizem ter slabši vid. Tanjšanje roženice pri keratokonusu v primerjavi z normalno roženico, kjer je najtanjša točka roženice centralno, nastane paracentralno v spodnjem temporalnem delu roženice. Pri bolnikih s keratokonusom so na očesni površini ugotavljali tudi povišane vrednosti vnetnih mediatorjev, kar nasprotuje dosedanjemu znanju, ko smo keratokonus obravnavali kot nevnetno bolezen roženice (1).

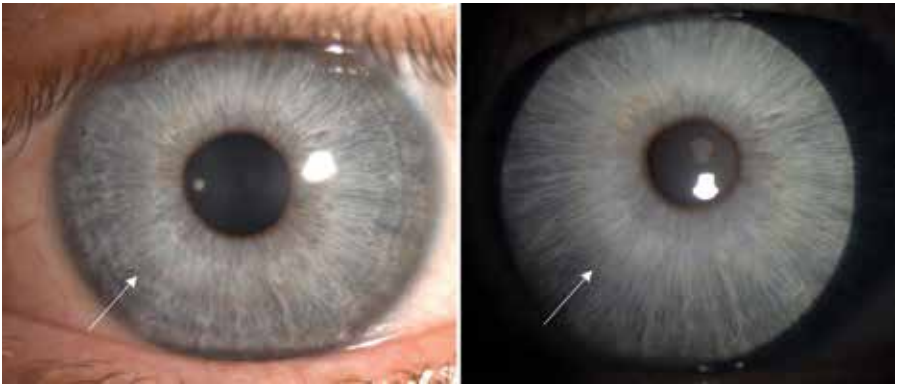
KLINIČNI ZNAKI

Na keratokonus pomislimo pri mlajših bolnikih z anamnezo progresivnega slabšanja vida, ki imajo višjo cilindrično refrakcijo in pri katerih z očalno korekcijo ne dosežemo izboljšanja vidne ostrine. Pri kliničnem pregledu je lahko roženica brez vidnih odstopanj od normale. Ob pregledu elektronske refrakcije in keratometriji pri bolnikih s keratokonusom vidimo strmejše keratometrije in visok roženični cilindar. Prvi tomografski znak že pri predklinični stopnji so elevacije na tomografiji zadnje površine roženice, ob napredovanju pa se pokaže izbočenje na mestu stanjšanja, običajno paracentralno spodaj, z elevacijami sprednje in zadnje površine roženice (2). Aberometrija pokaže visoke vrednosti aberacij višjega reda, najpogosteje v obliki koma.

Klinična znaka, ki ju opazimo pri bolnikih z zmernim in napredovalim keratokonusom, sta Fleischerjev obroč (slika 1) pri 86 % in Vogtove strije (slika 2, levo) pri 65 % bolnikov. Ob bazi konusa se na Descemetovi membrani krožno odlagajo depoziti železa (hemosiderina), ki predstavljajo

Fleischerjev obroč. Tanke ali debele navpično potekajoče stresne linije zadnje strome in Descemetove membrane predstavljajo Vogtove strije (slika 2, levo). Pogosto vidimo tudi povrhnje in globoke stromalne motnjave in poudarjene roženične živce (3). Pri skiaskopiji lahko vidimo striženje refleksa, pri retroiluminaciji roženice v midriazi pa kapljičast odblesk. Epitelne in subepitelne motnjave roženice so značilne za mlajše bolnike z napredovalim keratokonusom, ki nosijo kontaktne leče. Pri napredovalemu keratokonusu lahko opazamo tudi Munsonov znak (slika 3, desno) – deformacijo veke v obliki črke V, ko bolnik pogleda navzdol in konična roženica odrine spodnjo veko (4), in Rizzutijev znak – pri osvetljevanju roženice s temporalne strani lahko vidimo izrazit refleks na nazalni strani limbusa (5).

Akutni hidrops roženice je edem roženične strome in epitela, ki nastane zaradi poka Descemetove membrane in vdora tekočine v stromo roženice. Po resorpciji tekočine hidropsa se pojavijo centralno brazgotinjenje, dodatno stanjšanje in izrazita iregularnost sprednje površine roženice.



Slika 1: Fleischerjev obroč na roženici. Pri bolniku je vidna rjavkasta obročasta pigmentacija paracentralno spodaj – ob bazi konusa (→). Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.



Slika 2: Levo: Vogtove strije centralno (puščica); Desno: Munsonov znak. Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.

SLIKOVNA DIAGNOSTIKA

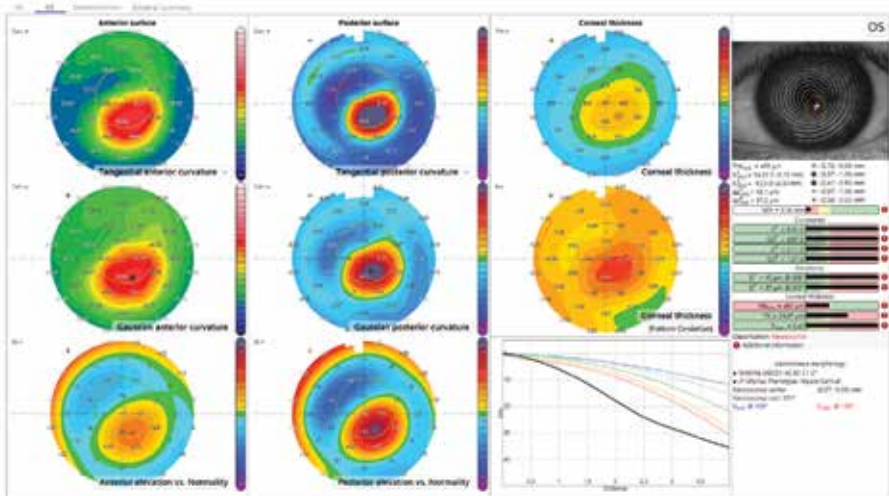
V diagnostiki je bistvenega pomena roženična tomografija, ki predstavlja tridimenzionalno slikanje roženice in je občutljiva in specifična metoda za prikaz ektaatičnih bolezni roženice.

MORFOLOGIJA ROŽENICE

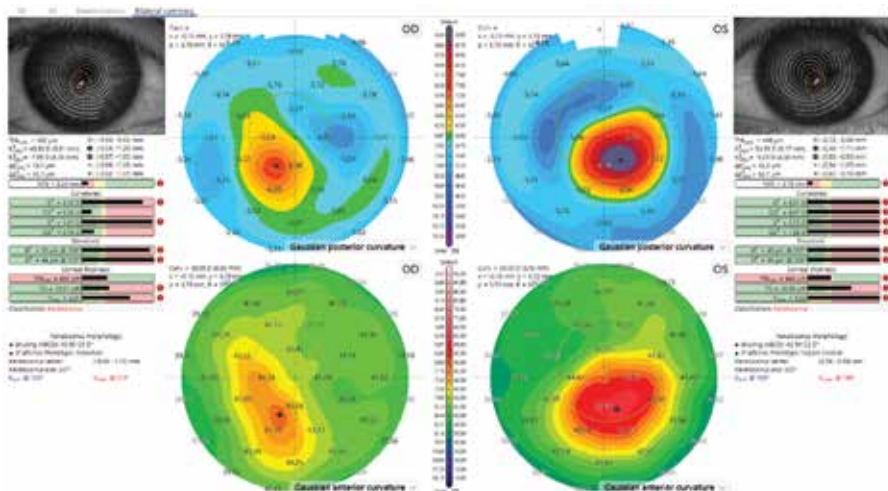
Pri keratokonusu ugotavljamo stanjšanje strome in epitela roženice na mestu izbočenja, okoli vrha konusa pa pride do kompenzatorne obročaste zadebelitve epitela, ki je pomemben za izravnavo očesne površine (6). Analiza debeline epitela je najbolj specifična in senzitivna metoda za ločevanje subkliničnega keratokonusa od normalnih roženic (7).

TOMOGRAFIJA

Najbolj zanesljiv tomografski kazalec pri zgodnjem keratokonusu so spremembe v zadnji površini – posteriozne elevacije. Pri bolniku s keratokonusom so tipično prisotne tudi elevacije in visoke krivine sprednje površine ter stanjšanje roženice, ki se običajno nahaja paracentralno spodaj (slika 3 in slika 4).



Slika 3: Analiza levega očesa pri bolniku s keratokonusom s tomografijo Sirius. Na sprednji in zadnji površini roženice so prisotne elevacije, na mestu elevacij stanjšanje (najtanjša debelina 452 μm), spremembe so tipične za keratokonus. Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.



Slika 4: Primerjalna analiza desnega in levega očesa pri bolniku s keratokonusom s tomografijo Sirius. Pri bolniku z obojestranskim keratokonusom je vidna izrazita asimetrija v izraženosti keratokonusa desno in levo. Vir: Arhiv Očesne klinika Ljubljana.

ZGODNJE ODKRIVANJE

Pri večini bolnikov lahko z ustreznim in pravočasnim neinvazivnim zdravljenjem (križnim povezovanjem kolagenskih vlaken – *angl.* crosslinking, CXL) izboljšamo vid ter učinkovito preprečujemo napredovanje bolezni in potrebo po presaditvi roženice. Z uporabo tomografije lahko bolnike s sumom na keratokonus (bolnik z dobro vidno ostrino in višjimi krivinami, a brez kliničnih znakov za keratokonus) in nepopolno klinično izraženim keratokonusom (*angl.* forme fruste – normalna tomografija v odsotnosti kliničnih znakov za keratokonus na enem očesu in keratokonus na drugem očesu) ustrezno ločimo od zdrave populacije. Pri odkrivanju kerakonusa upoštevamo kombinacije različnih kliničnih in tomografskih kazalcev, ki imajo visoko diagnostično napovedno vrednost.

OBRAVNAVA BOLNIKA S KERATOKONUSOM

Dejavniki, ki jih upoštevamo pri individualni obravnavi bolnika s keratokonusom:

- starost,
- prenašanje KL,
- želje/potrebe po izboljšanju vidne ostrine,
- pridružene bolezni očesne površine,
- stopnja keratokonusa in lokacija konusa,
- napredovanje keratokonusa,
- debelina roženice,
- roženične motnjave – predhodnji hidrops,
- kirurgove preference in izkušnje.

Delovna skupina Deshmuk et al. predlaga obravnavo, kot je navedena na sliki 5 (9).

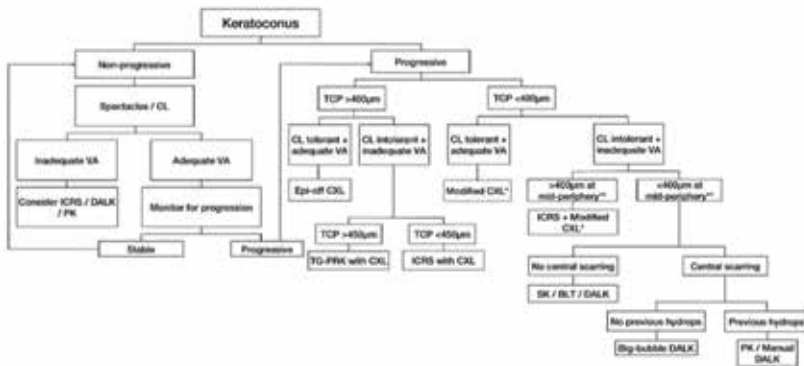


FIGURE 5

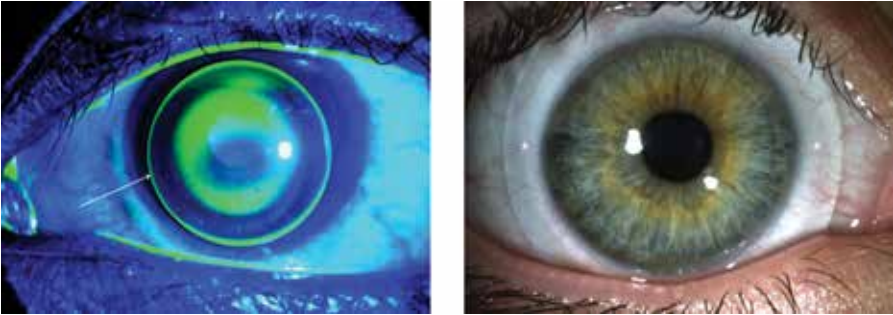
A proposed treatment algorithm for guiding the management of keratoconus. CL, contact lens; VA, visual acuity; ICRS, intracorneal ring segments; DALK, deep anterior lamellar keratoplasty; PK, penetrating keratoplasty; TCP, thinnest corneal pachymetry; CXL, corneal cross-linking; TG-PFK, topographic guided photorefractive keratectomy; SK, stromal keratophakia; BLT, Bowman's layer transplantation; DM, Descemet membrane. *Modified CXL includes transepithelial, iontophoresis-assisted, lenticule-assisted, CL-assisted, and adapted fluore CXL. **Corneal thickness at the mid-periphery/tunneling site for ICRS implantation.

Slika 5: Priporočena obravnava bolnika s keratokonusom. Vir: (9).

KONZERVATIVNO ZDRAVLJENJE

Ker je bolezen v začetnih stadijih lahko izrazito asimetrična, je poslabšanje vida zanemarljivo ali pa bolniki pogosto ne opazijo enostranskega poslabšanja vida. V začetnih stadijih je potrebna pozornost lečečega oftalmologa, ki je v stiku s takimi bolniki pri predpisovanju očal. Bolnike povprašamo o mencanju oči, srbenju oči in anamnezi alergije. Mencanje oči je pogosto glavni dejavnik za nastanek in progresijo keratokonusa. Nadzor in umiritev alergij in poudarek na prekinitvi z drgnjenjem in mencanjem oči sta ključna pri obravnavi bolnikov s keratokonusom. Ustrezno zdravljenje očesnih alergij glede na raziskave zmanjša tveganje za napredovanje bolezni, pojav hidropsa roženic in zapletov po kirurškemu zdravljenju bolnikov s keratokonusom. Pomembno je tudi odkrivanje in zdravljenje suhega očesa pri bolnikih s keratokonusom, ki so nosilci KL.

V začetnih stadijih bolezni zadošča korekcija vida z očali ali mehкими kontaktnimi lečami. Ko z očalno korekcijo več ne dosežemo izboljšanja vida, je potreben predpis mehkih toričnih, poltrdih kornealnih ali skleralnih kontaktnih leč. Izbira kontaktnih leč je odvisna od stopnje keratokonusa, lokacije konusa, bolnikove zmožnosti rokovanja s kontaktnimi lečami in tolerance kontaktnih leč. Pri bolnikih z začetnim keratokonusom lahko predpišemo mehke torične kontaktne leče, če so prisotne aberacije višjega reda (*angl.* higher order aberrations, HOAs), pa so prva izbira poltrde (*angl.* Rigid gas permeable, RGP) kornealne kontaktne leče (slika 6, desno). Uporaba kontaktnih leč pri bolnikih s keratokonusom v primerjavi z rabo očalne korekcije prepričljivo izboljša kakovost življenja, mentalno zdravje ter tudi periferni in barvni vid. Pri bolnikih z napredovalim keratokonusom in izrazito izbočenimi roženicami uporabljamo poltrde miniskleralne in skleralne leče (slika 6, levo), ki imajo večji premer in z robom slonijo na beločnici brez vtiskanja limbusa ali roženice, pod skleralno KL pa se nabere bazen umetnih solz, ki omogoča normalno homeostazo roženice. Pri nekaterih bolnikih se lahko za izboljšanje prenosljivosti poltrde kontaktne leče poslužimo t. i. »Piggyback« kontaktne leče (slika 7), pri kateri poltrda kontaktna leča stoji na mehki kontaktni leči.



Slika 6: Desno: Kornealna poltrda kontaktna leča (puščica), vidno je obarvanje solznega filma s fluoresceinom pod modro svetlobo. Levo: Skleralna poltrda kontaktna leča. Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.



Slika 7: Sistem »Piggyback« – mehka kontaktna leča (*), na njej poltrda kornealna kontaktna leča (→). Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.

KRIŽNO POVEZOVANJE KOLAGENSKIH VLAKEN (CXL)

Wollensak in sodelavci so križno povezovanje kolagenskih vlaken (CXL) prvič predstavili kot perspektivno metodo za upočasnitev ali zaustavitev napredovanja keratokonusa. Postopek temelji na uporabi kombinacije riboflavina (vitamina B2) in ultravijolične svetlobe tipa A (UV-A, 365 nm). Njuna medsebojna interakcija povzroči tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti, ki spodbujajo nastanek dodatnih kovalentnih vezi in prečno povezovanje

kolagenskih fibril, kar poveča biomehansko trdnost roženice in zavre nadaljnjo ektazijo (11). Leta 2016 je CXL pridobil tudi odobritev Ameriške agencije za hrano in zdravila. Od takrat so številne raziskave pokazale, da je CXL učinkovita metoda za zaustavitev napredovanja keratokonusa. V randomizirani kontrolirani študiji je bilo ugotovljeno, da je pri 98 % očes, zdravljenih s CXL, prišlo do stabilizacije bolezni, medtem ko je v nezdravljeni skupini 42 % očes pokazalo napredovanje keratokonusa v enem letu.

Poleg tega so dolgoročne raziskave pokazale, da je učinkovitost CXL pri zaustavitvi napredovanja keratokonusa med 86 in 90 % po petih letih. Pri očeh, na katerih ni bil opravljen CXL, je po treh letih prišlo do pomembnega stanjšanja roženice in porasta najvišje keratometrije (K_{max}), pri zdravljenih očeh pa so ti parametri ostajali stabilni (12). Ti podatki kažejo na prednost zgodnjega izvajanja CXL za preprečevanje poslabšanja vida in zmanjšanje potrebe po bolj invazivnih posegih, kot je presaditev roženice.

Primarna indikacija za CXL je dokumentirano napredovanje keratokonusa, kar se kaže kot povečanje ukrivljenosti roženice, zmanjšanje vidne ostrine ali postopno tanjšanje roženice (11). Ker kriteriji za napredovanje keratokonusa niso enotni, je globalno strinjanje glede opredelitve napredovanja ektazije kot sprememba vsaj dveh od naslednjih parametrov (11):

- povečanje ukrivljenosti sprednje površine roženice,
- povečanje ukrivljenosti zadnje površine roženice ter
- tanjšanje roženice in/ali povečanje hitrosti spremembe debeline od periferije proti najtanjši točki.

Čeprav napredovanje bolezni pogosto spremlja poslabšanje vidne ostrine, to ni nujen kriterij za potrditev napredovanja (13). V pripravi je že objava novega globalnega sklepa z natančnejšimi smernicami (14). Doslej so različne raziskave uporabljale različne kriterije napredovanja, najpogosteje pa so kot napredovanje upoštevale povišanje največje keratometrije (K_{max}) za vsaj 1,0 dioptrije v obdobju 6–12 mesecev, zmanjšanje najboljše korigirane vidne ostrine ter postopno zmanjševanje debeline roženice (15). Ker je CXL namenjen zaustavljanju napredovanja ektazije in ne odpravljanju refraktivne napake, poseg pri stabilnem keratokonusu ni smiseln. Z leti namreč pride do naravne zadebelitve kolagenskih vlaken in njihovega prečnega povezovanja, kar že spontano učvrsti roženično tkivo (16), starost nad 35 let pa se je izkazala celo kot dejavnik tveganja za več neželenih

učinkov po CXL (17). Nasprotno velja za mlajše bolnike – otroke in najstnike, pri katerih obstaja veliko tveganje za napredovanje ektazije. Pri teh bolnikih je že ob postavitvi diagnoze keratokonusa napredovale stopnje smiselno opraviti CXL, brez čakanja na dokaz o napredovanju bolezni (15,18). Zgodnje posredovanje je ključno, saj je CXL učinkovit, preden pride do izrazitega tanjšanja in brazgotinjenja roženice (19). Tudi pri mlajših bolnikih z blago obliko bolezni, dobro vidno ostrino (1,0 ali boljšo) ter minimalnimi ali nejasnimi topografskimi znaki, lahko bolezen redno spremljamo s pogostimi pregledi na vsake 1–3 mesece in CXL odložimo (15).

Standardni (dresdenski) protokol

Prvotni protokol, kot ga je opisal Wollensak s sodelavci, se imenuje tudi dresdenski protokol in velja za standardni protokol zdravljenja keratokonusa. Poseg vključuje odstranitev centralnih 8–9 mm epitela roženice (t. i. “epi-off”), s čimer se omogoči boljše prodiranje riboflavina v roženično stromo. Po nasičenju roženice z 0,1-% riboflavinom sledi 30-minutno obsevanje roženice s svetlobo UV-A z intenziteto 3 mW/cm^2 (11). Ta metoda je dokazano učinkovita pri povečanju biomehanske trdnosti roženice in ustavitvi napredovanja ektazije. Za izvedbo protokola je minimalna debelina roženice $400 \mu\text{m}$ (12). Kontraindikacije za CXL so debelina roženice pod $400 \mu\text{m}$ (velja za standardni protokol), aktivna okužba očesa, brazgotinjenje ali motnjave roženice, sindromom suhega očesa, stanje po prebolelem herpetičnem keratitisu, avtoimune bolezni in nosečnost (12).

Pospešeni protokoli

Z namenom skrajšanja trajanja postopka so bili razviti pospešeni protokoli, s katerimi enako končno energijo obsevanja dosežemo z večjo močjo obsevanja UV-A ob skrajšanem času izpostavljenosti. Raziskave so pokazale, da so pospešeni protokoli ($7 \text{ mW/cm}^2/15 \text{ min}$ (20), $9 \text{ mW/cm}^2/10 \text{ min}$, $18 \text{ mW/cm}^2/5 \text{ min}$) enako učinkoviti kot standardni za ustavljanje napredovanja ektazije, ne dosega pa enakega učinka na zmanjšanje keratometrij (21).

Transepitelni (t. i. “epi-on”) protokol

Da bi zmanjšali nelagodje in tveganje za okužbe po odstranitvi epitela, so se razvili transepitelni protokoli (22). Za boljše prehajanje velikih riboflavinskih

molekul preko epitela so bile razvite posebne oblike s kemičnimi pospeševalci (npr. benzalkonijev klorid – BAK in etilendiamintetraocetna kislina – EDTA), ki začasno prekinejo tesne medcelične stike. Transepitelni CXL kljub temu doseže le petino biomehanske učvrstitve v primerjavi s standardno tehniko (24, 25). Vprašljiva je tudi dolgoročna učinkovitost transepitelne tehnike (25–27).

Iontoforeza izrablja nizkointenzivno električno polje za prehajanje tesnih epiteljskih stikov. Klinične študije CXL z iontoforezo so pokazale obetavne rezultate pri ustavljanju napredovanja keratokonusa ter izboljšanju topografskih parametrov in vida, ki po obsegu sicer še ne dosegajo učinkov standardnega protokola (28).

CXL pri tanjših roženicah

Standardni Dresdenski protokol CXL pri bolnikih z roženico, tanjšo od 400 μm , predstavlja tveganje za okvaro endotela. Prilagojeni obetavni nestandardizirani varnejši protokoli v teh primerih so: i. hipoosmolarni riboflavin (30, 31), ii. CXL s kontaktno lečo, prepojeno z riboflavinom (CAXCL) (31), iii. ohranjanje otočkov epitelijskega nad najtanjšimi deli roženice (32). Hafezi in sodelavci so razvili standardiziran protokol (t. i. »sub400 protokol«) s predvidljivimi postoperativnimi rezultati, ki prilagaja celotni odmerek obsevanja UV-A glede na individualno debelino roženice in omogoča izvedbo CXL do debeline 214 μm (33).

Kombinirani postopki CXL (CXL-plus)

Z namenom optimizacije kliničnih izidov se pri CXL-plus sočasno s CXL izvede še en refraktivni ali terapevtski poseg: najpogosteje npr. ablacijo površine roženice z excimer laserjem (CXL + PRK) za topografsko vodeno remodeliranje nepravilne površine roženice (34), izboljšanje vidne ostrine in zmanjšanje aberacij višjega reda (36, 37) ali implantacijo intrastromalnih obročkov (ICRS + CXL) za mehansko sploščitev in simetrijo roženice, zmanjšanje roženične ukrivljenosti in izboljšanje vidne ostrine (37).

Zapleti CXL

Najpogostejša neželena učinka po CXL sta edem in zamotnitev roženice, ki sta blaga in prehodna. Hudi neželeni učinki s trajnimi posledicami so redki,

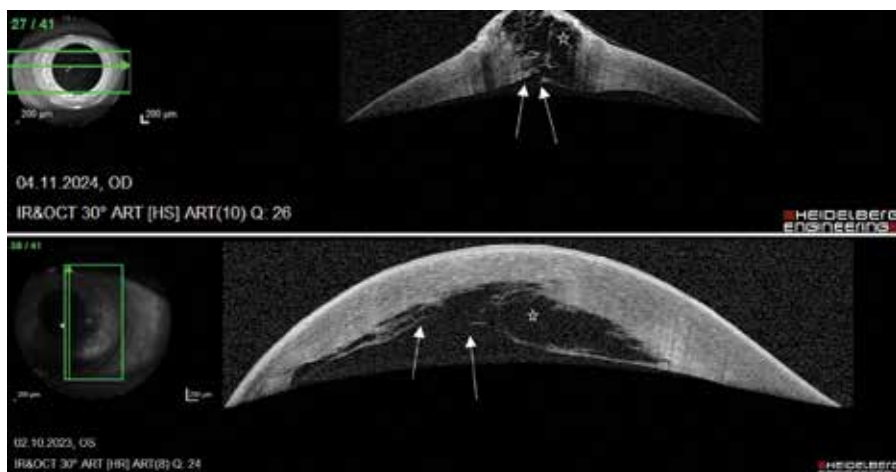
s kumulativno incidenco manj kot 1,3 %, vsi pa so povezani z odstranitvijo epitela roženice: i. infekcijski keratitis, ii. brazgotinjenje roženice.

Klinične koristi CXL tako močno odtehtajo morebitna tveganja pri zdravljenju keratokonusa in roženične ektazije (38).

AKUTNI HIDROPS ROŽENICE PRI BOLNIKU S KERATOKONUSOM

Akutni hidrops roženice je lokaliziran edem strome in epitela. Incidenca akutnega hidropsa pri bolnikih s keratokonusom je nizka in znaša okrog 3 % (39).

Pri pojavu hidropsa pride do poka Descemetove membrane, kar pripisujejo mrcanju oči, prav tako pa mora biti prisoten defekt v posteriorni stromi. Ob mikropoškodbi Descemetove membrane pride do vdora prekatne vodke v stromo roženice na mestu poka in razslojitve strome na mestu hidropsa. Diagnozo postavimo klinično: zrklo je mešano draženo, prisotna sta roženični stromalni in epitelni edem (slika 9). Edem roženice kvantificiramo z razdelitvijo v stopnje – pri višjih stopnjah hidropsa je prisoten večji defekt Descemetove membrane (41). Za boljšo opredelitev velikosti defekta Descemetove membrane in ustrežnejšo izbiro zdravljenja opravimo OCT sprednjega segmenta (slika 8), s katerim lahko tudi spremljamo odziv na zdravljenje.



Slika 8: Optična koherentna tomografija roženice (OCT) pri bolniku s zaporednim hidropsom na desnemu in levemu očesu. Pri bolniku z napredovalo ektatično boleznijo roženice so vidni temni prostori v stromi roženice (☆), ki predstavljajo votline, izpolnjene s prekatno tekočino. Viden je tudi defekt posteriorne strome in Descemetove membrane (→). Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.



Slika 9: Roženica z akutnim hidropsom na špranjski svetilki. Zrklo je blago ciliarno draženo, na roženici so vidni decentriran edem in motnjave roženice. Vir: Arhiv Očesne klinike Ljubljana.

Zdravljenje bolnikov s hidropsom je konzervativno ali kirurško – vidna ostrina je pri bolnikih, ki jih zdravimo ali konzervativno ali kirurško, primerljiva. Konzervativno zdravljenje uvedemo ob predstavitvi: predpišemo hiperosmolarno raztopino, topikalne antibiotike in kortikosteroide, cikloplegik, umetne solze in antiglavkomsko zdravljenje (44). Za lajšanje bolečin lahko predpišemo terapevtsko kontaktno lečo. Resorpcijo hidropsa lahko ob zgoraj predpisanem zdravljenju pričakujemo v 2–4 mesecih. Bolnike s hidropsom kirurško zdravimo od tretjega dne dalje, zgodnje kirurško zdravljenje pa pospeši resorpcijo edema ter zmanjša verjetnost brazgotinjenja in neovaskularizacije. Med kirurško zdravljenje prištevamo tehnike, ki:

1. zapirajo/približajo razpoko v Descemetovi membrani in posteriorni stromi:
 - a. injekcija zraka ali plina v sprednji prekat,
 - b. kompresijski šivi,
 - c. termokeratoplastika,
 - č. injekcija trombocitne plazme v stromo;
2. nadomestijo prizadeto Descemetovo membrano z endotelnim presadkom.

Ad 1a:

Plin injiciramo v sprednji prekat v lokalni (ali izjemoma splošni) anesteziji, preoperativno z 2-% pilokarpinom zožimo zenico, da preprečimo iatrogeno poškodbo leče. S paracentezo najprej znižamo očesni tlak s spuščanjem prekatne vodke, nato pa skozi svežo paracentezo v prekat injiciramo zrak ali plin (14 % C_3F_8 ali 20 % SF_6), ki služi tamponadi defekta posteriorne strome in ravna uvihane robove Descemetove membrane. Prekat sprva v celoti napolnimo s plinom, mehurček pa nato zmanjšamo. Bolnika po posegu strogo poležemo za 4–6 ur. Postopek lahko ponavljamo, če edem vztraja po resorpciji mehurčka. Ponovna tamponada je pogosteje potrebna pri aplikaciji zraka v prekat. Pomembno je, da v prekat ne injiciramo grozda malih mehurčkov. Temu se izognemo s počasno aplikacijo plina v prekat, vrh kanile za aplikacijo pa naj bo usmerjen proti ravnini irisa. Nekateri svetujejo hkratno iridektomijo ob injekciji plina v prekat.

Po injekciji zraka ali plina lahko pričakujemo resorpcijo hidropsa v 2–7 tednih (44); po posegu lahko pride do naslednjih zapletov: pupilarnega bloka in skoka očesnega tlaka, Urrets –Zavaliovega sindroma, migracije plina v stromo, perforacije, iatrogene katarakte, okužbe in poškodbe endotela.

Ad 1b:

Za kompresijske šive se odločimo v primeru velikih razmakov v posteriorni stromi ali velikih tekočinskih prostorov v stromi, kjer intrakameralna aplikacija plina ne bi zadostovala za zapiranje defekta ali pa obstaja nevarnost migracije mehurčka v stromo. Kompresijski šivi so celotne debeline, lahko jih uporabljamo sočasno z aplikacijo plina (C_3F_8) v prekat. Idealno kompresijski šiv poteka na globini 90 % debeline strome – pred Descemetovo membrano, kar služi približanju zadnjih slojev roženice. Kompresijske šive nastavimo po aplikaciji zraka v sprednji prekat. Zrak v prekatu izboljša vidljivost, zravna robove strgane Descemetove membrane, poglobi prekat in zmanjša verjetnost poškodbe irisa ali leče (46). Pri bolnikih s slabo vidljivostjo prekata lahko predhodno napravimo abrazijo epitela roženice. Uporabimo najlonski šiv za roženico 10,0 ter z iglo vstopimo in izstopimo 1–2 mm od roba defekta Descemetove membrane. Pravilno lokacijo in globino ocenimo z gubanjem Descemetove membrane ob vrhu igle. Zrak v sprednjem prekatu ob koncu operacije izmenjamo s plinom. Kompresijski šivi naj bi bili učinkoviti tudi samostojno (brez zračne oz. plinske tamponade), po nastavitvi šivov poročajo o resorpciji edema v do štirih tednih (47).

Komplikacije kompresijskih šivov so poškodba endotela, infektivni keratitis in endoftalmitis, brazgotinjenje strome v poteku šivov. Redko se pojavita tudi puščanje prekatne vodke ob šivu in globoka neovaskularizacija ob šivu.

Ad 1c:

Termokeratoplastika (TKP) je lokalizirano segrevanje strome v topikalni anesteziji z namenom koagulacije. S paracentezo splitvimo prekat, nato pa z bipolarnim elektrokavterizacijskim forecepsom kavteriziramo predel, ki je nekoliko večji od edema in ga v celoti zajame. Uporabimo najnižje nastavitve in hkrati ohlajujemo površino. Kolagenska vlakna se ob kavterizaciji skrčijo, kar pospeši zapiranje defekta v Descemetovi membrani ob hidropsu. Fibroza

stromalnih vlaken roženice preprečuje dodaten vdor tekočine v roženico. Raziskave uspešnosti TKP so redke in vključujejo majhno število bolnikov, zato je pred uvedbo metode v standardno obravnavo bolnikov potrebnih več kliničnih preiskav (49).

Ad 1č:

Obstajajo posamezni poizkusi zdravljenja hidropsa z injekcijo 0,3 ml avtologne plazme s trombociti v sprednji prekat, vendar je pred uvedbo opisanega zdravljenja potrebnih več raziskav pred uvedbo tega v redno klinično prakso (50).

Ad 2:

Endotelni presadki se za zdravljenje hidropsa svetujejo pri inferiornih defektih v Descemetovi membrani, večjih defektih zadnje strome in defektih z uvihanimi robovi, kjer hidrops zajema celotno debelino roženice in pri katerih bi manipulacija lahko povzročila perforacijo (51). V te namene se uporabljajo endotelni presadki: DSAEK (*angl.* Descemet stripping automated endothelial keratoplasty), ultratanki endotelni presadek (*angl.* Ultra thin Descemete's stripping automated endothelial keratoplasty, UT-DSAEK), presadek DM (*angl.* Descemete membrane endothelial keratoplasty, DMEK) in mini DMEK premera 3–5 mm.

ZAPLETI HIDROPSA

Možni zapleti hidropsa so infektivni keratitis, neovaskularizacija roženice, intrastromalne votline, brazgotinjenje in glavkom. Redko lahko ob hidropsu pride do perforacije roženice. Dejavniki tveganja za perforacijo so povišan znotrajočesni tlak, mencanje in drgnjenje oči ter topikalno zdravljenje s kortikosteroidi. Spontane perforacije hidropsa se lahko pojavijo med nosečnostjo (2).

PERFORACIJA OB ACH

Perforacija edematozne roženice ob hidropsu je urgentno stanje. Možnosti zdravljenja so tesno povijanje, terapevtska kontaktna leča, cianoakrilatno

lepilo, konjunktivalni presadek, roženično krpanje z darovalsko roženico (*angl.* patch graft) in penetrantna keratoplastika. Spremljamo tudi drugo oko, saj pogosto pride do hidropsa in perforacije roženice ob hidropsu tudi na drugemu očesu.

KIRURŠKO ZDRAVLJENJE KERATOKONUSA

ICRS

Znotrajroženični segmenti (*angl.* intracorneal ring segments, ICRS) služijo izravnavi centralnega dela roženice z dodajanjem tkiva v perifernem delu roženice. Nekateri avtorji jih priporočajo kot premostitveno zdravljenje do presaditve roženice pri bolnikih, pri katerih je vid z očalno korekcijo slab, ki ne prenašajo kontaktnih leč in nimajo brazgotinskih sprememb roženice ali so pri njih prisotne le blage motnjave roženice. (2)

Med komplikacije ICRS sodijo: razgalitev, iztis, zlom in migracija segmentov, ponavljajoče erozije, stanjšanje in perforacija roženice, neovaskularizacija roženice in infektivni keratitis. Zapleti se pojavijo pri 5–10 % bolnikov (52). Implantacija ICRS je kontraindicirana pri bolnikih z napredovalim keratokonusom (K_{max} nad 62–65D), motnjavami roženice, izrazito atopijsko boleznijo oči in distrofijami roženice, pri bolnikih, ki močno mencajo oči, imajo revmatološka obolenja ali sladkorno bolezen, prav tako tudi pri nosečnicah ali doječih materah (52).

CAIRS

Med novejšje tehnike sodi implantacija alogeničnih roženičnih intrastromalnih segmentov (*angl.* corneal allogenic intrastromal ring segments, CAIRS). Pri CAIRS se uporablja donorska roženica v obliki obročastih segmentov, ki jo vstavimo v stromo bolnikov na 50 % globine na predelu stanjšanja roženice, v krogu premera 7 mm okrog roženičnega centra. Po raziskavah pride po implantaciji CAIRS do izboljšanja vidne ostrine in K_{max} ; komplikacije so redke (brez vnetja ali premika segmentov). Za pripravo CAIRS se uporablja tudi ostanke roženic po pripravi endotelnih presadkov. CAIRS tako predstavljajo varno, učinkovito in reverzibilno kirurško metodo, ki se je lahko poslužimo pri bolnikih z začetnimi stopnjami keratokonusa.

Stromalna keratofakija

Vstavljanje tkiva v stromo roženice izravna roženično krivino in poveča debelino roženice pri bolnikih s keratokonusom. Za pripravo stromalnega žepa, v katerega se vstavi donorsko tkivo, se uporablja femtosekundni laser, donorska stroma pa je decelularizirana za preprečevanje zavrnitve. Tako pripravljena (konkavna ali konveksna) stromalna lentikula se vstavi v centralni ali v paracentralni del roženice (53).

Keratoplastika

Večino bolnikov s keratokonusom lahko obravnavamo konzervativno s predpisom pripomočkov za izboljšanje vida (očala ali kontaktne leče). Pri 20 % bolnikov s keratokonusom pride do takega napredovanja bolezni, da je potrebna presaditev roženice (54).

Po svetu je keratokonus glavna indikacija za presaditve roženic. V zahodnem svetu se kar 16–19 % vseh presaditev roženic opravi pri bolnikih s keratokonusom (55, 56). Penetrantno keratoplastiko kot metodo izbora zdravljenja bolnikov s keratokonusom v zadnjih dveh desetletjih nadomešča keratoplastika delne debeline – sprednja delna presaditev roženice (*angl.* deep anterior lamellar keratoplasty, DALK). Zaradi možnih komplikacij in pomanjkanja donorskih roženic se za presaditev roženice pri bolniku s keratokonusom odločimo samo pri bolnikih z napredovalim keratokonusom, kjer smo izčrpali vse preostale možnosti zdravljenja.

Penetrantna keratoplastika

Za penetrantno keratoplastiko (PKP) se odločimo pri bolnikih, ki imajo obširne brazgotinske spremembe, ki zajemajo celotno debelino strome roženice, pri izrazito stanjšanih roženicah (najtanjše debeline <150–200 μm) in bolnikih z nižjim številom endotelnih celic ali pridruženimi boleznimi endotela. Po opravljeni PKP poročajo o dobrih rezultatih vidne ostrine pri napredovalih keratokonusih: delež bolnikov s korigirano vidno ostrino vsaj 0,5 po Snellenu pred operacijo znaša 8 %, po opravljeni PKP pa se poveča na 74 %, pogosto bolniki vidijo dobro tudi z očalno korekcijo (57). Preživetje presadkov pri bolnikih s keratokonusom po PKP znaša 89 % 10 let po operaciji in se zniža na 49 % 20 let po operaciji (58). Ker so kandidati za PKP

pretežno mladi bolniki s keratokonusom, zaradi pričakovane življenjske dobe pogosto potrebujejo ponovno presaditev, kar poveča verjetnost zavrnitve presadka.

Najpogostejši razlog odpovedi presadka je imunska zavrnitev, ki se pojavi v prvih letih po presaditvi – 50 % v prvem letu in 90 % v prvih štirih letih po presaditvi (57). Do funkcionalne odpovedi presadka pride običajno po več letih, ko je presadek še prozoren in število endotelnih celic ohranjeno, presadek pa se izboči in stanjša na stiku presajene in lastne roženice. Funkcionalno odpove 10–30 % presadkov 10–20 letih po PKP (59). Bolniki z ektatičnimi presadki pogosto slabo prenašajo nošnje kontaktnih leč, občasno pa pride do hidropsa ali perforacije roženice na mestu stanjšanja že ob manjših poškodbah. Rezidualni astigmatizem po PKP je pogost, saj kar 61 % bolnikov po opravljeni PKP potrebuje predpis KL ali vsaj očalno korekcijo za izboljšanje vida; pri 77 % bolnikov je preostali astigmatizem izredno visok in znaša $\geq 5D$ (57). Zaradi dolgotrajnega kortikosteroidnega zdravljenja, ki je običajno potrebno doživljenjsko, poročajo o povišanem notrajočesnem tlaku pri kar 46 % bolnikov s keratokonusom po PKP (60).

Globoka sprednja delna presaditev roženice

Za globoko sprednjo delno presaditev roženice (*angl.* Deep anterior lamellar keratoplasty, DALK) se odločimo pri bolnikih, ki imajo ohranjeno število endotelnih celic in nimajo brazgotinskih sprememb Descemetove membrane. Pri bolnikih z napredujočim keratokonusom brez predhodnega hidropsa je najpogostejša tehnika DALK z velikim mehurčkom (*angl.* big bubble DALK, bbDALK), ki v nekaterih državah predstavlja že več kot polovico opravljenih presaditev roženice (61). Z nedavnim odkritjem Dua sloja, ki je mehansko odporen sloj nad Descemetovo membrano, lahko pri tehniki DALK z mehurčkom pride do razslojitve na različnih globinah. Ločimo tip 1, tip 2 in mešan veliki mehurček (62). Pri bolnikih s predhodnim hidropsom se uspešno izvaja tudi manualni DALK (*angl.* pre-Descemete DALK, pdDALK).

Prednosti DALK pred PKP je veliko. Zaradi ohranitve endotelnih celic je zmanjšana verjetnost zavrnitve in odpovedi presadka, preživetje presadkov po DALK v primerjavi s presadki po PKP pa naj bi bilo po nekaterih raziskavah kar 3-krat daljše (68). Pooperativno je manjša verjetnost endoftalmitisa,

okrevanje po operaciji je hitrejše, integriteta zrkla pa ohranjena. Dolgoročno zdravljenje s kortikosteroidi pogosto ni potrebno, kar zmanjša verjetnost stranskih učinkov kortikosteroidov (zlasti očesne hipertenzije in glavkoma). Očesna hipertenzija pri bolnikih s keratokonusom po DALK se pojavi pri do 36 % bolnikov. Vidni izhodi po DALK so odvisni od tehnike; najboljše izhode ima bbDALK, slabše pa pdDALK, kjer zaradi manualne resekcije pride do ostankov strome. Ostanke strome in debris v stiku prejemnikove roženice s presadkom povečajo nepravilnosti, motnjave in aberacije – zlasti če je preostale strome veliko. Manj je tudi ektazij presadka po DALK v primerjati s PKP (71).

DALK je v primerjavi s PKP tehnično zelo zahtevna operacija s strmo učno krivuljo, zato so izhodi po DALK odvisni od izkušenosti kirurga. Pri retrospektivni analizi v terciarnem centru, kjer so operacije opravljali kirurgi v procesu učenja (ki letno niso opravili več kot 20 operacij vrste DALK) in so pri 91,3 % očesa operacijo pričeli s tehniko bbDALK, je prišlo do intraoperativne perforacije Descemetove membrane pri 45 % vseh očes. Namesto DALK so nato opravili PKP pri 24 % očes (61). Pri izkušenih kirurških poročajo o le do 10 % intraoperativnih perforacij Descemetove membrane in spremembi v operacijo PKP intraoperativno le pri do 3 % očes (72).

Presaditev Bowmanovega sloja

Presaditev Bowmanovega sloja (*angl.* Bowman layer transplantation, BLT) se uporablja za preprečevanje napredovanja keratokonusa pri bolnikih, ki niso kandidati za CXL ali ICRS. BLT zniža K_{max} za 6–8 dioptrij, keratometrija pa je ostala stabilna ob daljšem spremljanju (73). Pri redkih bolnikih z znano atopijo in anamnezo izrazitega mrcanja je več let po BLT prišlo do hidropsa. Glede na redke objavljene raziskave bi lahko z BLT ohranili vidno ostrino pri bolnikih s keratokonusom, je pa za uvedbo BLT v standardno obravnavo bolnikov s keratokonusom potrebnih več študij.

OPERACIJA SIVE MRENE PRI BOLNIKI S KERATOKONUSOM

Pri bolnikih s keratokonusom se siva mreha pojavi prej kot pri zdravi populaciji, lečne skalitve pa imajo večji vpliv na kakovost vida pri bolniku s keratokonusom. Operacija sive mrehe pri bolnikih s keratokonusom

predstavlja izziv zaradi meritev, v katerih so lahko prisotna nihanja, visoke keratometrije in visok roženični astigmatizem (tudi posteriorni), meritev aksialne dolžine pa je pogosto nezanesljiva. Operacija je tehnično zahtevnejša zaradi stanjšanja in brazgotinskih sprememb roženice (74).

Predoperativne meritve

Zanesljivost predoperativnih meritev in njihova ponovljivost sta pri bolnikih s keratokonusom slabi zaradi slabše fiksacije in zamaknjene vidne osi. Keratokonus vpliva na astigmatizem, če se nahaja znotraj vidne osi. Astigmatizem je višji, če je vrh konusa zunaj vidne osi. Velikost konusa je neposredno povezana z obsegom aberacij višjega reda (75).

Za izračun znotrajočesne leče (*angl.* Intraocular lens, IOL) se svetuje uporaba totalne keratometrije (*angl.* total corneal power), vendar se mnenja avtorjev, kjer naj bi se meritev pridobila (centralno ali periferno), razhajajo (76). Razlika v razmerju med sprednjo in zadnjo površino roženice je spremenjena in pogosto sta obe površini iregularni, zaradi česar je uporaba standardnih formul za izračun IOL pri bolnikih s keratokonusom nezanesljiva (77). Bolniki s keratokonusom imajo daljše aksialne dolžine in globlje prekate, kar neposredno vpliva na oceno efektivnega položaja leče pri izračunu IOL. Vse formule za izračun IOL vodijo v hiperopni izid zaradi precenitve lomne moči roženice (78). Najboljše refraktivne izhode poročajo z uporabo formule SRK/T in za keratokonus razvitih formul, ki nudijo bolj zanesljive izračune IOL v primerjavi z normalnimi formulami zlasti pri napredovalih keratonosih ($K > 50D$) (79).

Pri bolnikih s stabilnim keratokonusom in anteriornimi keratometričnimi vrednostmi, ki so nižje kot 52D, lahko z implantacijo torične IOL dosežemo pomembno izboljšanje vidne ostrine. Torične IOL niso primerne za bolnike, pri katerih je predvidena presaditev roženice.

Intraoperativna priporočila

Intraoperativno je pomembna lokacija incizij – z glavno incizijo se izognemo najtanjšemu delu roženice: v primeru vrha konusa spodaj temporalno načrtujemo glavno incizijo superiorno ali superotemporalno. Zaradi verjetnosti puščanja incizij se odsvetuje kornealna incizija, svetuje pa se sklerokornealni tunel, ki zmanjša pooperativni astigmatizem. Pogosto je na

incizijah treba nastaviti korneoskleralne šive. Intraoperativno lahko zaradi difuzne osvetlitve in senc pričakujemo slabšo vidljivost zaradi razpršenosti svetlobnih žarkov. Deloma lahko vidljivost izboljšamo z uporabo viskoelastika na očesni površini, ki izravna nepravilnosti sprednje površine. Svetovana je uporaba barvila za kapsulo za izboljšanje vidljivosti med postopkom kapsulorekse. Intraoperativno uporabimo nižje nastavitve tekočin za zmanjšanja mehanskega stresa na roženico (74).

Pooperativna oskrba

V primeru nošnje poltrde kontaktne leče pred operacijo sive mreže bo za dober vid potrebna tudi nošnja kontaktne leče po operaciji.

Pri operativnem izračunu zaradi mehanizma delovanja poltrdih kornealnih in skleralnih kontaktnih leč ciljamo na miopni izid. Solzni bazen pod poltrdo (kornealno ali skleralno) kontaktno lečo namreč deluje kot močna zbiralna leča (tudi z močjo do $-15D$).

ZAKLJUČKI

Zgodnje odkrivanje s pravočasno multidisciplinarno obravnavo pri mladih bolnikih, ki predstavljajo aktivno delovno populacijo, močno izboljša kakovost življenja.

Za bolnike s keratokonusom si zato želimo celostne obravnave. Vanjo naj se aktivno vključijo lečeči pediatri in izbrani zdravniki družinske medicine, prav tako pa splošni oftalmologi, ki odkrivajo bolnike s keratokonusom. Pomembno je prepoznavanje kliničnih znakov pri mlajši populaciji. S predpisom ustreznih kontaktnih leč nudimo bolnikom izboljšanje vida, z rednim spremljanjem tomografije pa pravočasno odkrivamo bolnike, pri katerih keratokonus napreduje, in jim lahko ponudimo CXL, ki dokazano zmanjša napredovanje keratokonusa. V obravnavo se aktivno vključujejo tudi specialisti sprednjega segmenta, ki zdravijo bolnike s hidropsom in opravljajo presaditve roženice pri bolnikih, ki to potrebujejo.

LITERATURA

1. Galvis V, Sherwin T, Tello A, Merayo J, Barrera R, Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye (Lond)*. 2015 Jul;29(7):843–59.
2. Bafna RK, Kalra N, Asif MI, Beniwal A, Lata S, Sharma SV, et al. Management of acute corneal hydrops – Current perspectives. *Indian J Ophthalmol*. 2024 Apr;72(4):495–507.
3. Li X, Rabinowitz YS, Rasheed K, Yang H. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients. *Ophthalmology*. 2004 Mar;111(3):440–6.
4. Gold J, Chauhan V, Rojanasthien S, Fitzgerald J. Munson's Sign: An Obvious Finding to Explain Acute Vision Loss. *Clin Pract Cases Emerg Med*. 2019 Aug;3(3):312–3.
5. Rizzuti AB. Diagnostic illumination test for keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 1970 Jul;70(1):141–3.
6. Franco J, White CA, Kruh JN. Analysis of Compensatory Corneal Epithelial Thickness Changes in Keratoconus Using Corneal Tomography. *Cornea*. 2020 Mar;39(3):298–302.
7. Li Y, Chamberlain W, Tan O, Brass R, Weiss JL, Huang D. Subclinical keratoconus detection by pattern analysis of corneal and epithelial thickness maps with optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg*. 2016 Feb;42(2):284–95.
8. Keeler R, Singh AD, Dua HS. Carving the cornea: the von Hippel trephine. *Br J Ophthalmol*. 2009 Jul;93(7):847.
9. Deshmukh R, Ong ZZ, Rampat R, Alió del Barrio JL, Barua A, Ang M, et al. Management of keratoconus: an updated review. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Jun 20;10:1212314.
10. Ortiz-Toquero S, Perez S, Rodriguez G, de Juan V, Mayo-Iscar A, Martin R. The influence of the refractive correction on the vision-related quality of life in keratoconus patients. *Qual Life Res*. 2016 Apr;25(4):1043–51.
11. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003 May;135(5):620–7.
12. Raiskup F, Spoerl E. Corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A. I. Principles. *Ocul Surf*. 2013 Apr;11(2):65–74.
13. Gomes JAP, Tan D, Rapuano CJ, Belin MW, Ambrósio RJ, Guell JL, et al. Global Consensus on Keratoconus and Ectatic Diseases. *Cornea*. 2015 Apr;34(4):359.
14. ESCRS:Second Global Consensus on Keratoconus [Internet]. [cited 2025 Mar 11]. Available from: <https://www.es CRS.org/>
15. Galvis V, Tello A, Ortiz AI, Escaf LC. Patient selection for corneal collagen cross-linking: an updated review. *Clin Ophthalmol*. 2017 Apr 7;11:657–68.
16. Malik NS, Moss SJ, Ahmed N, Furth AJ, Wall RS, Meek KM. Ageing of the human corneal stroma: structural and biochemical changes. *Biochim Biophys Acta*. 1992 Mar 20;1138(3):222–8.
17. Complication and failure rates after corneal crosslinking - PubMed [Internet]. [cited 2025 Feb 28]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19631120/>
18. Chatzis N, Hafezi F. Progression of keratoconus and efficacy of pediatric [corrected] corneal collagen cross-linking in children and adolescents. *J Refract Surg*. 2012 Nov;28(11):753–8.

19. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FMA, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: three-year results. *Ophthalmology*. 2014 Apr;121(4):812–21.
20. Kanellopoulos AJ. Long term results of a prospective randomized bilateral eye comparison trial of higher fluence, shorter duration ultraviolet A radiation, and riboflavin collagen cross linking for progressive keratoconus. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:97–101.
21. Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RMMA, Ajani A, Jayadev C, Sharma C, et al. Current Protocols of Corneal Collagen Cross-Linking: Visual, Refractive, and Tomographic Outcomes. *Am J Ophthalmol*. 2015 Aug;160(2):243–9.
22. Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, Mrochen M. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Feb 1;54(2):1176–80.
23. Hafezi F. Corneal Cross-Linking: Epi-On. *Cornea*. 2022 Oct 1;41(10):1203–4.
24. Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Mar;35(3):540–6.
25. Scarcelli G, Kling S, Quijano E, Pineda R, Marcos S, Yun SH. Brillouin Microscopy of Collagen Crosslinking: Noncontact Depth-Dependent Analysis of Corneal Elastic Modulus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Feb;54(2):1418–25.
26. Boxer Wachler BS, Pinelli R, Ertan A, Chan CCK. Safety and efficacy of transepithelial crosslinking (C3-R/CXL). *J Cataract Refract Surg*. 2010 Jan;36(1):186–8; author reply 188–189.
27. Stojanovic A, Zhou W, Utheim TP. Corneal Collagen Cross-Linking with and without Epithelial Removal: A Contralateral Study with 0.5% Hypotonic Riboflavin Solution. *Biomed Res Int*. 2014;2014:619398.
28. Caporossi A, Mazzotta C, Paradiso AL, Baiocchi S, Marigliani D, Caporossi T. Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg*. 2013 Aug;39(8):1157–63.
29. Efficacy of iontophoresis-assisted epithelium-on corneal cross-linking for keratoconus - PMC [Internet]. [cited 2025 Feb 28]. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5902378/>
30. Raiskup F, Spoerl E. Corneal cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution in thin keratoconic corneas. *Am J Ophthalmol*. 2011 Jul;152(1):28–32.e1.
31. Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypotonic riboflavin solution in thin corneas. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2009 Apr 1;35(4):621–4.
32. Srivatsa S, Jacob S, Agarwal A. Contact lens assisted corneal cross linking in thin ectatic corneas – A review. *Indian J Ophthalmol*. 2020 Dec;68(12):2773–8.
33. Mazzotta C, Ramovecchi V. Customized epithelial debridement for thin ectatic corneas undergoing corneal cross-linking: epithelial island cross-linking technique. *Clin Ophthalmol*. 2014;8:1337–43.
34. Hafezi F, Kling S, Gilardoni F, Hafezi N, Hillen M, Abrishamchi R, et al. Individualized Corneal Cross-linking With Riboflavin and UV-A in Ultrathin Corneas: The Sub400 Protocol. *American Journal of Ophthalmology*. 2021 Apr;224:133–42.

35. Kanellopoulos AJ, Binder PS. Collagen cross-linking (CCL) with sequential topography-guided PRK: a temporizing alternative for keratoconus to penetrating keratoplasty. *Cornea*. 2007 Aug;26(7):891–5.
36. Corneal collagen cross-linking (CXL) combined with refractive procedures for the treatment of corneal ectatic disorders: CXL plus - PubMed [Internet]. [cited 2025 Mar 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25325898/>
37. Achiron A, Yahalomi T, Knyazer B, Hecht I, Elbaz U, Spierer O, et al. Efficacy comparison of combining cross-linking and refractive laser ablation in progressive keratoconus: systematic review and meta-analysis. *Can J Ophthalmol*. 2024 Dec;59(6):e661–72.
38. Effect of treatment sequence in combined intrastromal corneal rings and corneal collagen crosslinking for keratoconus - PubMed [Internet]. [cited 2025 Mar 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19969212/>
39. Adverse events after riboflavin/UV-A corneal cross-linking: a literature review - PubMed [Internet]. [cited 2025 Feb 28]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34448966/>
40. Fan Gaskin JC, Patel DV, McGhee CNJ. Acute corneal hydrops in keratoconus - new perspectives. *Am J Ophthalmol*. 2014 May;157(5):921–8.
41. Parker JS, Birbal RS, van Dijk K, Oellerich S, Dapena I, Melles GRJ. Are Descemet Membrane Ruptures the Root Cause of Corneal Hydrops in Keratoconic Eyes? *Am J Ophthalmol*. 2019 Sep;205:147–52.
42. Sharma N, Mannan R, Jhanji V, Agarwal T, Pruthi A, Titiyal JS, et al. Ultrasound biomicroscopy-guided assessment of acute corneal hydrops. *Ophthalmology*. 2011 Nov;118(11):2166–71.
43. Vanathi M, Behera G, Vengayil S, Panda A, Khokhar S. Intracameral SF6 injection and anterior segment OCT-based documentation for acute hydrops management in pellucid marginal corneal degeneration. *Cont Lens Anterior Eye*. 2008 Jun;31(3):164–6.
44. Kucumen BR, Yenerel NM, Gorgun E, Dinc UA. Anterior segment optical coherence tomography findings of acute hydrops in a patient with keratoconus. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2010;41 Suppl:S114-116.
45. Basu S, Vaddavalli PK, Vemuganti GK, Ali MH, Murthy SI. Anterior segment optical coherence tomography features of acute corneal hydrops. *Cornea*. 2012 May;31(5):479–85.
46. Sharma N, Mannan R, Titiyal JS. Nonresolution of acute hydrops because of intrastromal migration of perfluoropropane gas. *Cornea*. 2010 Aug;29(8):944–6.
47. Subudhi P, Khan Z, Subudhi BNR, Sitaram S. To show the efficacy of compressive sutures alone in the management of acute hydrops in a keratoconus patient. *BMJ Case Rep*. 2017 May 4;2017:bcr2016218843.
48. Mohebbi M, Pilafkan H, Nabavi A, Mirghorbani M, Naderan M. Treatment of Acute Corneal Hydrops With Combined Intracameral Gas and Approximation Sutures in Patients With Corneal Ectasia. *Cornea*. 2020 Feb;39(2):258–62.
49. Zhao Z, Wu S, Ren W, Zheng Q, Ye C, Kim AD, et al. Compression sutures combined with intracameral air injection versus thermokeratoplasty for acute corneal hydrops: a prospective-randomised trial. *Br J Ophthalmol*. 2021 Dec;105(12):1645–50.

50. Alio JL, Toprak I, Rodriguez AE. Treatment of Severe Keratoconus Hydrops With Intracameral Platelet-Rich Plasma Injection. *Cornea*. 2019 Dec;38(12):1595–8.
51. Bachmann B, Händel A, Siebelmann S, Matthaei M, Cursiefen C. Mini-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for the Early Treatment of Acute Corneal Hydrops in Keratoconus. *Cornea*. 2019 Aug;38(8):1043–8.
52. Sakellaris D, Balidis M, Gorou O, Szentmary N, Alexoudis A, Grieshaber MC, et al. Intracorneal Ring Segment Implantation in the Management of Keratoconus: An Evidence-Based Approach. *Ophthalmol Ther*. 2019 Oct 1;8(1):5–14.
53. Riau AK, Htoon HM, Alió Del Barrio JL, Nubile M, El Zarif M, Mastropasqua L, et al. Femtosecond laser-assisted stromal keratophakia for keratoconus: A systemic review and meta-analysis. *Int Ophthalmol*. 2021 May;41(5):1965–79.
54. Hwang S, Chung TY, Han J, Kim K, Lim DH. Corneal transplantation for keratoconus in South Korea. *Sci Rep*. 2021 Jun 15;11(1):12580.
55. Ricouard F, Puyraveau M, Gain P, Martinache I, Delbosc B, Gauthier AS. Regional trends in corneal transplantation from 2004 to 2015 in France: a 12-year review on indications, technique and waiting period. *Cell Tissue Bank*. 2020 Mar;21(1):65–76.
56. Park CY, Lee JK, Gore PK, Lim CY, Chuck RS. Keratoplasty in the United States: A 10-Year Review from 2005 through 2014. *Ophthalmology*. 2015 Dec;122(12):2432–42.
57. Kelly TL, Williams KA, Coster DJ, Australian Corneal Graft Registry. Corneal transplantation for keratoconus: a registry study. *Arch Ophthalmol*. 2011 Jun;129(6):691–7.
58. Anshu A, Li L, Htoon HM, de Benito-Llopis L, Shuang LS, Singh MJ, et al. Long-Term Review of Penetrating Keratoplasty: A 20-Year Review in Asian Eyes. *Am J Ophthalmol*. 2021 Apr;224:254–66.
59. Alió Del Barrio JL, Bhogal M, Ang M, Ziaei M, Robbie S, Montesel A, et al. Corneal transplantation after failed grafts: Options and outcomes. *Surv Ophthalmol*. 2021;66(1):20–40.
60. Ayyala RS. Penetrating Keratoplasty and Glaucoma. *Survey of Ophthalmology*. 2000 Sep 1;45(2):91–105.
61. Gadhvi KA, Romano V, Fernández-Vega Cueto L, Aiello F, Day AC, Allan BD. Deep Anterior Lamellar Keratoplasty for Keratoconus: Multisurgeon Results. *Am J Ophthalmol*. 2019 May;201:54–62.
62. Dua HS, Freitas R, Mohammed I, Ting DSJ, Said DG. The pre-Descemet's layer (Dua's layer, also known as the Dua-Fine layer and the pre-posterior limiting lamina layer): Discovery, characterisation, clinical and surgical applications, and the controversy. *Prog Retin Eye Res*. 2023 Nov;97:101161.
63. Mohammadpour M, Heidari Z, Hashemi H. Updates on Managements for Keratoconus. *J Curr Ophthalmol*. 2018 Jun;30(2):110–24.
64. McGhee CNJ, Kim BZ, Wilson PJ. Contemporary Treatment Paradigms in Keratoconus. *Cornea*. 2015 Oct;34 Suppl 10:S16-23.
65. Cassidy D, Beltz J, Jhanji V, Loughnan MS. Recent advances in corneal transplantation for keratoconus. *Clin Exp Optom*. 2013 Mar;96(2):165–72.
66. Oyeniran E, Tauqeer Z. Update in the Management of Keratoconus. *Adv in Oph*. 2021 Aug 1;6:307–24.

67. Reinhart WJ, Musch DC, Jacobs DS, Lee WB, Kaufman SC, Shtein RM. Deep anterior lamellar keratoplasty as an alternative to penetrating keratoplasty a report by the american academy of ophthalmology. *Ophthalmology*. 2011 Jan;118(1):209–18.
68. Borderie VM, Sandali O, Bullet J, Gaujoux T, Touzeau O, Laroche L. Long-term results of deep anterior lamellar versus penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. 2012 Feb;119(2):249–55.
69. Huang OS, Mehta JS, Htoon HM, Tan DT, Wong TT. Incidence and Risk Factors of Elevated Intraocular Pressure Following Deep Anterior Lamellar Keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. 2016 Oct;170:153–60.
70. Musa FU, Patil S, Rafiq O, Galloway P, Ball J, Morrell A. Long-term risk of intraocular pressure elevation and glaucoma escalation after deep anterior lamellar keratoplasty. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012 Nov;40(8):780–5.
71. Jafarinasab MR, Feizi S, Javadi MA, Hashemloo A. Graft biomechanical properties after penetrating keratoplasty versus deep anterior lamellar keratoplasty. *Curr Eye Res*. 2011 May;36(5):417–21.
72. Huang OS, Htoon HM, Chan AM, Tan D, Mehta JS. Incidence and Outcomes of Intraoperative Descemet Membrane Perforations During Deep Anterior Lamellar Keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. 2019 Mar;199:9–18.
73. van Dijk K, Liarakos VS, Parker J, Ham L, Lie JT, Groeneveld-van Beek EA, et al. Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus. *Ophthalmology*. 2015 May;122(5):909–17.
74. Aiello F, Nasser Q, Nucci C, Angunawela RI, Gatziofous Z, Maurino V. Cataract Surgery in Patients with Keratoconus: Pearls and Pitfalls. *Open Ophthalmol J*. 2017 Jul 31;11:194–200.
75. Tan B, Baker K, Chen YL, Lewis JW, Shi L, Swartz T, et al. How keratoconus influences optical performance of the eye. *J Vis*. 2008 Feb 28;8(2):13.1-10.
76. Park DY, Lim DH, Chung TY, Chung ES. Intraocular lens power calculations in a patient with posterior keratoconus. *Cornea*. 2013 May;32(5):708–11.
77. Piñero DP, Nieto JC, Lopez-Miguel A. Characterization of corneal structure in keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2012 Dec;38(12):2167–83.
78. Garzón N, Arriola-Villalobos P, Felipe G, Poyales F, García-Montero M. Intraocular lens power calculation in eyes with keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2020 May;46(5):778–83.
79. Heath MT, Mulpuri L, Kimiagarov E, Patel RP, Murphy DA, Levine H, et al. Intraocular Lens Power Calculations in Keratoconus Eyes Comparing Keratometry, Total Keratometry, and Newer Formulae. *American Journal of Ophthalmology*. 2023 Sep 1;253:206–14.

UČINKOVITOST MEZENHIMSKIH MATIČNIH CELIC IN ZUNAJCELIČNIH VEZIKLOV ZA OBNOVO ROŽENIČNEGA TKIVA, RAZISKOVALNI PROJEKT

Zala Lužnik Marzidovšek¹, Miha Marzidovšek¹, Petra Schollmayer¹, Marko Hawlina¹, Ana Kolenc², Tina Cirman², Elvira Maličev²

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Zavod RS za transfuzijsko medicino Ljubljana

IZVLEČEK

Roženica se po poškodbi, okužbi ali vnetju lahko zaceli z brazgotino, kar vodi v izgubo prosojnosti. Presaditev roženice predstavlja zlati standard zdravljenja, vendar se še vedno soočamo z določenimi izzivi, zato se razvijajo alternativne regenerativne možnosti zdravljenja roženičnih obolenj. Zdravljenja z uporabo mezenhimske matične celice in njihovih celičnih produktov, kot so zunajcelični vezikli, uvrščamo med napredna zdravljenja v klinični uporabi. Mezenhimske matične celice so zaradi nizke imunogenosti, njihove diferenciacijske sposobnosti in parakrinega delovanja še posebej zanimive za regenerativno medicino. V prispevku predstavljamo trenutno razumevanje molekularnih in celičnih mehanizmov, s katerimi mezenhimske matične celice in njihovi zunajcelični vezikli prispevajo k regeneraciji roženice, rezultate prvih kliničnih raziskav s tega področja, kot tudi namen in cilje naše predklinične raziskave.

Ključne besede: regeneracija roženice, mezenhimske matične celice, zunajcelični vezikli

UVOD

Roženica je prosojen, avaskularen in imunsko privilegiran sprednji del očesa, ki ima ključno vlogo pri prenosu svetlobe do mrežnice. Po poškodbi, okužbi

ali vnetju, ki zajema globlje sloje, se roženica lahko zaceli z brazgotino, kar vodi v izgubo prosojnosti in poslabšanje vidne ostrine (1). Presaditev roženice še vedno predstavlja zlati standard zdravljenja številnih obolenj roženice s trajno okvaro prozornosti in je najpogostejša oblika presaditev tkiva na svetu, ki je v večini primerov zelo uspešna (2). Pri tej kirurški metodi izrežemo oboleli predel roženice in ga zamenjamo z zdravim donorskim tkivom (2).

Kljub številnim napredkom v kirurških pristopih presaditve roženice in shranjevanju donorskega tkiva se še vedno soočamo s številnimi izzivi, kot so pomanjkanje donorskega tkiva, pooperativno preživetje presadkov (npr. propad presadka) in potreba po ponovnih presaditvah, imunske zavrnitvene reakcije pri visoko rizičnih skupinah prejemnikov in imunosupresivno zdravljenje ter peri- in pooperativni zapleti, kot so primarni propad presadka, vnetja in okužbe (3–5). Zato se razvijajo in postopno uveljavljajo alternativne možnosti zdravljenja, ki spodbujajo lastno sposobnost regeneracije tkiv z uporabo naprednih tehnologij, kamor uvrščamo tudi zdravljenja z uporabo mezenhimske matične celice (MMC) in njihovih celičnih produktov (tj. zunajceličnih veziklov, ZV) (6).

MEZENHIMSKE MATIČNE CELICE

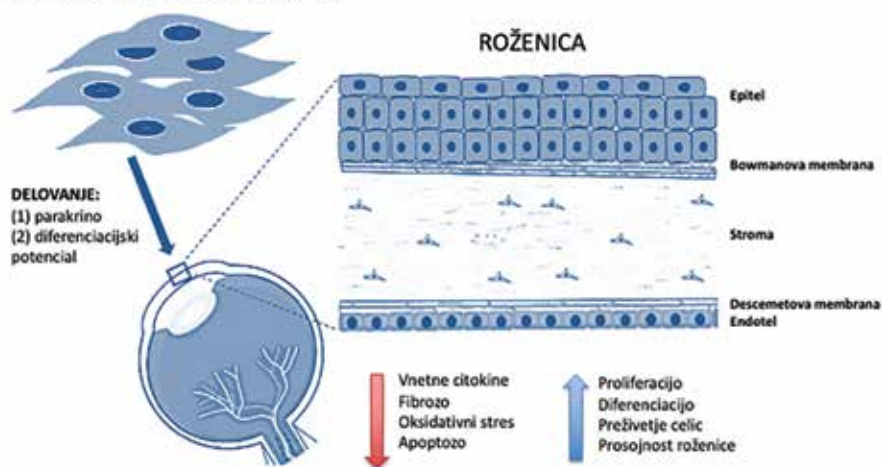
Matične celice so celice, ki so sposobne samoobnove in diferenciacije, s čimer omogočajo embrionalni razvoj in regeneracijo tkiv v odrasli dobi (7). MMC so multipotentne matične celice s številnimi regenerativnimi in imunomodulatornimi lastnostmi, zato so najpogosteje uporabljene celice v kliničnih raziskavah (8). Zaradi nizke ravni izražanja molekul glavnega histokompatibilnega kompleksa (MHC) I in MHC II ter njihovih kostimulativnih molekul so MMC manj imunogene (*angl.* immune evasive) (9, 10), zato bi lahko bile imunske zavrnitvene reakcije po alogeni presaditvah MMC manj tvegane.

MMC najpogosteje pridobimo s punkcijo kostnega mozga in maščobnega tkiva, nahajajo pa se tudi v tkivu popkovine in v periferni krvi. Mednarodno združenje za celično terapijo (*angl.* International Society for Cellular Therapy) je določilo ključne kriterije, ki jih morajo izpolnjevati celice, da jih lahko poimenujemo MMC (11). Izolirane celice se morajo pritrčiti na

plastično podlago, morajo izražati CD105, CD73 in CD90 in ne smejo izražati (so negativne za) CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79alfa, CD19 in humanega levkocitnega antigena DR, pod ustreznimi *in vitro* pogoji pa se morajo diferencirati v kostne celice, hondrocite in adipocite (11).

Potencial MMC za zdravljenje različnih roženičnih bolezni je bil potrjen v številnih predkliničnih raziskavah na živalskih modelih (12, 13). Obstajajo številni mehanizmi delovanja MMC na spodbujanje obnove in regeneracije tkiv. Raziskave so pokazale, da se MMC lahko pod ustreznimi *in vitro* pogoji diferencirajo v roženične celice, kot so epitelne celice (14–16), pri čemer izražajo ključne označevalce, kot sta citokeratin 3 in 12 (14–16), keratocitom podobne celice (17) in endotelnim celicam podobne celice (18). Poleg neposredne diferenciacijske sposobnosti MMC pa je v regenerativni medicini še posebej pomembna njihova parakrina funkcija (19). MMC izločajo številne bioaktivne molekule, ki regulirajo celjenje, vnetje, angiogenezo in imunske procese v poškodovanih tkivih (19). MMC izločajo rastne faktorje, ki pospešujejo celjenje roženičnega epitela, kot so hepatocitni rastni faktor (HGF), fibroblastni rastni faktor 2 (FGF-2) in inzulinu podoben rastni faktor 1 (IGF-1) (20). Študije so pokazale tudi, da lahko MMC zmanjšajo vnetni odziv v tkivu roženice z znižanjem izločanja provnetnih citokinov, kot so interleukin-1 (IL 1), interleukin-2 (IL-2) in faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α) (21). MMC spodbujajo regeneracijo strome in vzpostavitev njene prosojnosti s pomočjo zaviranja diferenciacije fibroblastov v miofibroblaste, regulirajo bolj pravilno preoblikovanje zunajceličnega matriksa, zavirajo vnetne citokine in spodbujajo sekrecijo protivnetnih citokinov (npr. IL 10, TGF- β) (21) (slika 1).

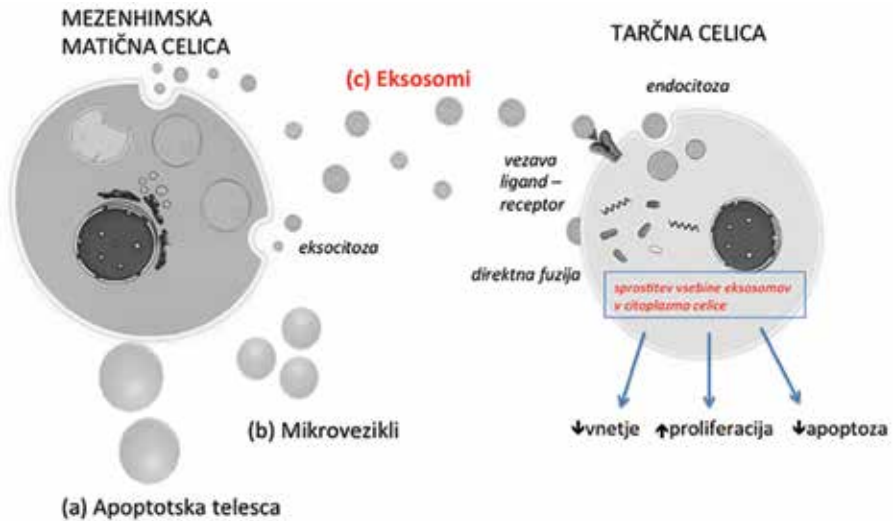
MEZENHIMSKE MATIČNE CELICE



Slika 1: Mezenhimske matične celice in njihov potencial za zdravljenje roženičnih bolezni.

ZUNAJCELIČNI VEZIKLI

Zunajcelični vezikli (ZV) so drobne membranske strukture, ki jih sproščajo različne celice (22). Po velikosti in obliki jih delimo na eksosome (velikost 30–150 nm), mikrovezikle (100–1000 nm) in apoptotska telesca (1000–5000 nm) (22). ZV sodelujejo pri medceličnem signaliziranju. Vsebujejo številne bioaktivne molekule, kot so različni citokini, rastni faktorji, signalni lipidi, mRNA in miRNA (22). Njihova sestava je odvisna od celice, ki jih izloča, kot tudi od razmer v mikrookolju, v katerem se celica nahaja (19). Učinkujejo lahko parakrino z delovanjem na celice v neposredni okolici ali endokrinno preko krvnega obtoka, kjer delujejo na oddaljene tarčne celice. Ko tarčna celica prevzame ZV, se vsebina sprosti v citoplazmo. Tako ZV vplivajo na različne signalne poti, ki so vpletene v proliferacijo, migracijo, apoptozo in regeneracijo celic, sodelujejo tudi pri imunomodulaciji (23) (slika 2).



Slika 2: Nastanek zunajceličnih veziklov. Prikazani so: (a) apoptotska telesca, ki nastanejo med celično smrtjo; (b) multivezikularna telesca, ki se izločajo iz membran celic; (c) eksosomi, ki izvirajo iz endosomov celic. Ko tarčna celica prevzame eksosom, se vsebina sprosti v citoplazmo in lahko vpliva na različne signalne poti v celici.

Raziskovalci so v zadnjih letih ugotovili, da lahko številne parakrine učinke MMC posredujejo njihovi ZV (19, 22, 23), in s tem omogočili razvoj brezceličnega zdravljenja. Študije na živalskih modelih so pokazale obetavne rezultate uporabe ZV, pridobljenih iz MMC, tudi za obnovo roženice, saj spodbujajo proliferacijo epitelnih celic, zmanjšujejo fibrozacijo in vnetje v stromi ter delujejo citoprotektivno na endotelne celice (19, 23–25).

PRVE KLINIČNE ŠTUDIJE ZA ZDRAVLJENJE BOLEZNI ROŽENICE Z MMC in ZV

Na podlagi številnih spodbudnih rezultatov predkliničnih študij (12–14, 18) so se zasnovale prve klinične študije uporabe MMC in njihovih ZV pri zdravljenju različnih roženičnih bolezni (26–36). Gre za področje

regenerativne medicine, kjer se vzpostavlja nova paradigma zdravljenja, ki se osredotoča na regeneracijsko sposobnost obolele roženice. Do sedaj je bilo v angleški recenzirani literaturi objavljenih 10 člankov, ki so poročali uporabo različnih virov MMC, tako alogenih kot avtolognih, pridobljenih iz kostnega mozga ali maščobnega tkiva, za zdravljenje različnih bolezni roženice (26–30, 32–36). MMC so bile uporabljene za zdravljenje napredovalih bolezni očesne površine, kamor uvrščamo bolezni pomanjkanja limbalnih matičnih celic (*angl.* limbal stem cell deficiency, LSCD), boleznih suhega očesa (*angl.* dry eye disease, DED), DED v sklopu bolezni presadka zoper gostitelja (*angl.* graft versus host disease, GVHD), za zdravljenje sterilnega perzistentnega epitelnega defekta in za zdravljenje bolnikov z napredovalo obliko keratokonusa (26–36). Le ena objavljena klinična raziskava je do sedaj za zdravljenje bolezni suhega očesa uporabila le ZV, ki so jih pridobili iz MMC popkovine (31).

Calonge s sodelavci (26) je prva poročala o uspešni uporabi alogenih MMC, pridobljenih iz kostnega mozga, za zdravljenje bolnikov z obojestransko LSCD (26). Za gojenje in prenos celic so uporabili amnijsko membrano (26). Rezultate so primerjali s presaditvijo gojenih limbalnih epitelnih celic (*angl.* cultured limbal epithelial transplantation, CLET) in metodo poimenovali presaditev mezenhimalnih matičnih celic (*angl.* mesenchymal stem cell transplantation, MSCT) (26). Dvanajst mesecev po MSCT so poročali o 82,6-odstotni uspešnosti vzpostavitve stabilne roženične površine, brez večjih opaženih zapletov ali imunskih zavrnitev (26). Epitelni fenotip površinskih roženičnih celic je bil vzpostavljen pri 85,7 % bolnikov, zdravljenih z MSCT, in pri 77,8 % bolnikov, zdravljenih s CLET (26). S tem so zaključili, da so tudi drugi viri matičnih celic, ki ne izvirajo iz očesa (kot so MMC), varni in učinkoviti pri obnovi roženičnega epitela (26, 27). Boto de Los Bueis s sodelavci (28) je za zdravljenje obojestranskega LSCD uporabil avtologne MMC, pridobljene iz maščobnega tkiva, ki so jih injicirali v vsak limbokonjunktivalni kvadrant ter jih razpršili po deepitelizirani površini roženice, ki so jo nato prekrili z amnijsko membrano (28). Eno leto po operaciji je bilo šest od osmih presaditev uspešnih s stabilno roženično epitelno površino (28). MMC, pridobljene iz maščobnega tkiva, so bile že uporabljene tudi za zdravljenje bolezni suhega očesa (29, 30). Injicirali so jih neposredno v solzno žlezo (29) ali intravensko (30). Študije so poročale o

izboljšanjem izločanju solz in zmanjšanjem vnetju (29, 30). Zhou s sodelavci je poročal o zmanjšanju vnetja na očesni površini ob topični uporabi ZV, pridobljene iz MMC iz popkovine, v obliki kapljic za zdravljenje suhega očesa pri bolnikih GVHD (31).

MMC so bile uporabljene tudi za zdravljenje keratokonusa (33–36). Že leta 2017 je Alio del Barrio s sodelavci (33) izvedel pionirsko raziskavo za oceno varnosti in učinkovitosti implantacije avtolognih MMC, pridobljenih iz maščobnega tkiva, v stromo roženice pri petih zaporednih bolnikih z napredovalo obliko keratokonusa (33). V nadaljnjih raziskavah so za prenos MMC uporabili tudi decelularizirano donorsko roženično stromo (34–36). Raziskave so pokazale izboljšanje debeline roženice in vidne ostrine, večjih zapletov niso opazili (33–36).

NAMEN IN CILJI NAŠE PREDKLINIČNE RAZISKAVE

Čeprav so prve pionirske klinične študije uporabe MMC in ZV za obnovo očesne površine in roženične strome v specializiranih centrih po svetu pokazale obetavne kratkoročne rezultate (26–36), obstaja še veliko neznank v pravilnem razumevanju njihovega delovanja, metodah pridobivanja in shranjevanja, kot tudi dolgoročni varnosti njihove uporabe. Pomembno je izpostaviti, da so tehnike zdravljenja z MMC in njihovimi celičnimi produkti klasificirane kot zdravila za napredno zdravljenje (*angl.* advanced therapy medicinal products, ATMP). Takšna zdravila se lahko proizvaja le v akreditiranih proizvodnjah, ki jih regulirajo nacionalne agencije (Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke). Varnost in učinkovitost ATMP mora biti nedvoumno dokazana v predkliničnih raziskavah pred medicinsko uporabo na ljudeh. Predklinične raziskave so tako ključen prvi korak za širše dostopne, varne, validirane in ponovljive tehnike zdravljenj, ki uporabljajo MMC in njihove produkte, npr. ZV, kar je tudi namen naše predklinične raziskave.

Na Očesni kliniki imamo dobro razvito sodelovanje z Zavodom Republike Slovenije za transfuzijsko medicino (ZTM). Že več let sodelujemo na področju raziskovanja roženičnih epitelnih in mezenhimskih matičnih celic ter priprave amnijske membrane v zdravstvene in raziskovalne namene. V zadnjih desetih letih smo v Sloveniji postavili temelje za *ex vivo*

gojenje roženičnih epitelnih matičnih celic na amnijski membrani, ki jih pridobimo iz donorskega roženičnega tkiva. Področje želimo razvijati dalje in vzpostaviti sodobne temelje tudi za gojenje multipotentnih MMC in izolacijo njihovih ZV, kar bo omogočilo razvoj novih produktov zdravljenja ter pomembno razširilo poznavanje biologije gojenih MMC in njihovih ZV. Razvojno-raziskovalni projekt je sofinanciran s pomočjo Javne agencije za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Slovenije. Raziskavo je odobrila tudi Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (številka 0120-181/2024-2711-3).

V prvi fazi raziskave smo se osredotočili na eksperimente standardizacije in validacije pridobivanja ZV iz različnih virov MMC (kostnega mozga, maščobnega tkiva in popkovine) in primerjavo sestave med njimi. Proučujemo njihove bioaktivne molekule, še posebej smo osredotočeni na faktorje, ki lahko delujejo protivnetno, antifibrotično, citoprotektivno in nevroprotektivno pri celjenju ran roženice. V drugi fazi raziskave bomo v različnih *ex vivo* poškodbenih modelih (npr. model poškodbe epitela, endotela) preiskusili najbolj potenten vir MMC in njihovih ZV. Proučevali bomo sposobnost celjenja epitelnih defektov roženice, nevroprotektiven učinek na obnovo živčnih celic in citoprotektiven učinek na preživetje endotelnih celic pod različnimi stresnimi pogoji. Preiskusili bomo tudi sposobnost gojenja MMC na amnijski membrani, ki bi bila primerna tudi kot nosilec za prenos celic.

Dognanja, pridobljena v naši raziskavi, bi lahko izboljšala možnosti zdravljenja bolnikov s hudo obojestransko okvaro očesne površine in popolnim LSCD, kjer avtologna presaditev epitelnih limbalnih matičnih celic ni mogoča in je dolgoročna vidna prognoza po alogenski keratolimbalni presaditvi vprašljiva zaradi visokega tveganja propada presadka zaradi zavrnitvenih reakcij (5, 37). Razvoj avtolognih naprednih zdravil, ki temeljijo na MMC ali njihovih ZV, bi tako lahko predstavljal alternativni, minimalno invazivni, neimunogeni, nevroprotektivni in obnovljivi vir matičnih celic za uspešno rekonstrukcijo očesne površine po hudih obojestranskih poškodbah in boleznih. Hkrati bomo preiskusili, ali lahko s pomočjo ZV, pridobljenih iz MMC, izboljšamo preživetje endotelnih celic donorskih roženic med shranjevanjem pred presaditvijo. S tem bi lahko povečali število primernih

roženic za presaditev, kot tudi podaljšali čas shranjevanja donorskih roženic, kar bi lahko pomembno vplivalo na boljšo preskrbo z donorskim tkivom.

ZAKLJUČEK

Zdravljenje napredovalih boleznih roženice s pomočjo MMC in njihovih ZV je izjemno obetavno področje regenerativne medicine, ki bi lahko preseglo nekatere omejitve standardnih zdravljenj. A pred uspešno vpeljavo nove metode zdravljenja v vsakdanjo klinično prakso so potrebni striktni predklinični postopki standardizacije in validacije izolacije ZV in MMC ter proučevanje najučinkovitejše poti aplikacije (npr. izbor primerne nosilca celic), kot tudi varnosti.

ZAHVALA

Projekt (*Učinkovitost mezenhimskih matičnih celic (MMC) in zunajceličnih veziklov, pridobljenih iz MMC, za obnovo roženičnega tkiva*, št. J3-50107) je sofinancirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz državnega proračuna.

LITERATURA

1. DelMonte DW, Kim T. *Anatomy and physiology of the cornea*. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2011;37:588–98.
2. Liu S, Wong YL, Walkden A. *Current Perspectives on Corneal Transplantation*. *Clin. Ophthalmol.* 2022;16:631–46.
3. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. *Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking*. *JAMA Ophthalmol.* 2016;134(2):167–73.
4. Tan DT, Dart JK, Holland EJ, Kinoshita S. *Corneal transplantation*. *Lancet.* 2012;379(9827):1749–61.
5. Holland EJ. *Management of Limbal Stem Cell Deficiency: A Historical Perspective, Past, Present, and Future*. *Cornea.* 2015;34Suppl10:S9–15.
6. Kobal N, Marzidovšek M, Schollmayer P, Maličev E, Hawlina M, Marzidovšek ZL. *Molecular and Cellular Mechanisms of the Therapeutic Effect of Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles in Corneal Regeneration*. *Int J Mol Sci.* 2024;25(20):11121.
7. Verfaillie CM. *Adult stem cells: Assessing the case for pluripotency*. *Trends Cell Biol.* 2002;12:502–8.

8. Trounson A, McDonald C. *Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges*. *Cell Stem Cell*. 2015;17:11–22.
9. Wong RS. *Mesenchymal stem cells: Angels or demons?* *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; 2011:459510.
10. Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. *Mesenchymal stem cells: Immune evasive, not immune privileged*. *Nat. Biotechnol.* 2014;32:252–60.
11. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause, et al. *Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells*. *The International Society for Cellular Therapy position statement*. *Cytotherapy*. 2006;8: 315–7.
12. Saccu G, Menchise V, Gai C, Bertolin M, Ferrari S, Giordano C, et al. *Bone Marrow Mesenchymal Stromal/Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Promote Corneal Wound Repair by Regulating Inflammation and Angiogenesis*. *Cells*. 2022;11(23):3892.
13. Li F, Zhao SZ. *Mesenchymal stem cells: Potential role in corneal wound repair and transplantation*. *World J Stem Cells*. 2014;6(3):296–304.
14. Phinney DG, Prockop DJ. *Concise review: Mesenchymal stem/multipotent stromal cells: The state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views*. *Stem Cells* 2007;25:2896–902.
15. Sikora B, Skubis-Sikora A, Kimsa-Furdzik M, Ciszek W, Kostrzewski M, Stojko J, et al. *Adipose-derived stem cells undergo differentiation after co-culture with porcine limbal epithelial stem cells*. *Stem Cell Res*. 2019;41:101609.
16. Nieto-Nicolau N, Martínez-Conesa EM, Fuentes-Julián S, Arnalich-Montiel F, García-Tuñón I, De Miguel MP, et al. *Priming human adipose-derived mesenchymal stem cells for corneal surface regeneration*. *J. Cell Mol. Med.* 2021;25:5124–37.
17. Park SH, Kim KW, Chun YS, Kim JC. *Human mesenchymal stem cells differentiate into keratocyte-like cells in keratocyte-conditioned medium*. *Exp. Eye Res*. 2012;101:16–26.
18. Liu XW, Zhao JL. *Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of corneal endothelium damages in rabbits*. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2007;43:540–5.
19. Bhujel B, Oh SH, Kim CM, Yoon YJ, Kim YJ, Chung HS, et al. *Mesenchymal Stem Cells and Exosomes: A Novel Therapeutic Approach for Corneal Diseases*. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24:10917.
20. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. *Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells*. *Cytokine Growth Factor. Rev*. 2009;20:419–27.
21. Roddy GW, Oh JY, Lee RH, Bartosh TJ, Ylostalo J, Coble K, et al. *Action at a distance: Systemically administered adult stem/progenitor cells (MSCs) reduce inflammatory damage to the cornea without engraftment and primarily by secretion of TNF- α stimulated gene/protein 6*. *Stem Cells*. 2011;29:1572–9.
22. Kolenc A, Maličev E. *Current Methods for Analysing Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles*. *Int J Mol Sci*. 2024 Mar 19;25(6):3439.
23. Louie HH, Mugisho OO, Chamley LW, Rupenthal ID. *Extracellular Vesicles as Biomarkers and Therapeutics for Inflammatory Eye Diseases*. *Mol. Pharm*. 2023;20: 23–40.
24. Nuzzi R, Buono L, Scalabrin S, De Iulii M, Bussolati B. *Effect of Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles on Damaged Human Corneal Endothelial Cells*. *Stem Cells Int*. 2021;2021:6644463.

25. Buono L, Scalabrin S, De Iuliis M, Tanzi A, Grange C, Tapparo M, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Protect Human Corneal Endothelial Cells from Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4930.
26. Calonge M, Pérez I, Galindo S, Nieto-Miguel T, López-Paniagua M, Fernández I, et al. A proof-of-concept clinical trial using mesenchymal stem cells for the treatment of corneal epithelial stem cell deficiency. *Transl. Res.* 2019;206:18–40.
27. Calonge M, Nieto-Miguel T, de la Mata A, Galindo S, Herreras JM, López-Paniagua M. Goals and Challenges of Stem Cell-Based Therapy for Corneal Blindness Due to Limbal Deficiency. *Pharmaceutics.* 2021;13:1483.
28. Boto de Los Bueis A, Vidal Arranz C, Del Hierro-Zarzuelo A, Díaz Valle D, Méndez Fernández R, Gabarrón Hermosilla MI, et al. Long-Term Effects of Adipose-Derived Stem Cells for the Treatment of Bilateral Limbal Stem Cell Deficiency. *Curr. Eye Res.* 2024;49:345–53.
29. Møller-Hansen M, Larsen AC, Toft PB, Lynggaard CD, Schwartz C, Bruunsgaard H, et al. Safety and feasibility of mesenchymal stem cell therapy in patients with aqueous deficient dry eye disease. *Ocul. Surf.* 2021;19:43–52.
30. Weng J, He C, Lai P, Luo C, Guo R, Wu S, et al. Mesenchymal stromal cells treatment attenuates dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Mol. Ther.* 2012;20:2347–54.
31. Zhou T, He C, Lai P, Yang Z, Liu Y, Xu H, et al. miR-204-containing exosomes ameliorate GVHD-associated dry eye disease. *Sci. Adv.* 2022;8:eabj9617.
32. Agorogiannis GI, Alexaki VI, Castana O, Kymionis GD. Topical application of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells (MSCs) for persistent sterile corneal epithelial defect. *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012;250:455–7.
33. Alió Del Barrio JL, El Zarif M, de Miguel MP, Azaar A, Makdissy N, Harb W, et al. Cellular Therapy With Human Autologous Adipose-Derived Adult Stem Cells for Advanced Keratoconus. *Cornea* 2017;36:952–60.
34. Alió JL, Alió Del Barrio JL, El Zarif M, Azaar A, Makdissy N, Khalil C, et al. Regenerative Surgery of the Corneal Stroma for Advanced Keratoconus: 1-Year Outcomes. *Am. J. Ophthalmol.* 2019;203:53–68.
35. El Zarif M, Jawad KA, Alió Del Barrio JL, Jawad ZA, Palazón-Bru A, deMiguel MP, et al. Corneal Stroma Cell Density Evolution in Keratoconus Corneas Following the Implantation of Adipose Mesenchymal Stem Cells and Corneal Laminas: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2020;61:22.
36. El Zarif M, Alió JL, Alió Del Barrio JL, AbdulJawad K, Palazón-Bru A, AbdulJawad Z, et al. Corneal Stromal Regeneration Therapy for Advanced Keratoconus: Long-term Outcomes at 3 Years. *Cornea* 2021;40:741–54.
37. Holland EJ, Mogilishetty G, Skeens HM, Hair DB, Neff KD, Biber JM, et al. Systemic immunosuppression in ocular surface stem cell transplantation: results of a 10-year experience. *Cornea.* 2012;31(6):655–61.

REKONSTRUKCIJA OČESNE POVRŠINE PRI INSUFICIENCI LIMBALNIH MATIČNIH CELIC

Petra Schollmayer¹, Luka Lapajne¹, Zala Lužnik Marzidovšek¹

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

IZVLEČEK

Limbalne epitelne matične celice (LEMC) se nahajajo v Vogtovih palisadah v posebnih nišah v področju limbusa. S proliferacijo ter migracijo centripetalno in proti površini roženice obnavljajo roženični epitel. Hkrati tvorijo pregrado za rast vezničnih epitelnih celic na roženico. Pomanjkanje ali okvara funkcije LEMC (*angl.* limbal stem cell deficiency, LSCD) vodi do izgube obnavljanja epitelnih celic ter izgube pregradne funkcije limbusa. Tako se roženični epitel postopno zamenja z vezničnim. Značilni znaki LSCD so konjunktivalizacija in neovaskularizacija roženice, kronično vnetje ter ponavljajoči se defekti epitela z razjedami in brazgotinjenjem. Očesno površino rekonstruiramo z različnimi kirurškimi tehnikami, ki se razlikujejo glede na to, ali je pomanjkanje limbalnih matičnih celic enostransko ali obojestransko, delno ali popolno. Enostransko delno LSCD zdravimo s sekvenčno sektorsko veznično epiteliektomijo (*angl.* sequential sector conjunctival epitheliectomy, SSCE) ali z metodo preusmeritve veznice s pomočjo amnijske membrane (*angl.* amnion-assisted conjunctival epithelial redirection, ACER). Pri popolnem pomanjkanju LEMC je za rekonstrukcijo očesne površine potrebna presaditev LEMC. Obstajata dve možnosti: klasična neposredna presaditev limbalnega tkiva in presaditev *ex vivo* gojenega epitela. Glede na prizadetost enega ali obeh oče je presaditev lahko avtologna (z zdravega bolnikovega očesa) ali alogena (od sorodnika ali mrtvega darovalca) tako pri klasični neposredni presaditvi limbusa kot pri gojenem epitelu. Tehnike klasične neposredne presaditve limbusa so: avtologni veznično-limbalni presadek (*angl.* conjunctival limbal autograft, CLAU), veznično limbalni presadek sorodnika (*angl.* limbal related conjunctival limbal autograft, LR CLAU), enostavna presaditev limbalnega epitela (*angl.* simple limbal epithelial transplantation, SLET) in

keratolimbalni alogeni presadek (*angl.* keratolimbal allograft, KLAL). Tehniki, ki sta osnovani na gojenju epitela, sta presaditev gojenega limbalnega epitela (*angl.* cultivated limbal epithelial transplantation, CLET) in presaditev epitela gojenih avtolognih celic ustne sluznice (*angl.* Cultivated oral mucosal epithelial transplantation, COMET). Kljub dvotirni sistemski imunosupresiji je najmanj uspešna neposredna presaditev alogenega limbalnega tkiva mrtvega darovalca, medtem ko je pri presaditvi gojenega epitela zavrinitvenih reakcij manj. Če nobena od tehnik presaditve LEMC ni uspešna, pride v poštev le še očesna keratoproteza.

Ključne besede: insuficienca limbalnih epitelnih matičnih celic, presaditev limbusa, presaditev gojenega limbalnega epitela, zarodne epitelne celice, presaditev roženice

UVOD

Očesno površino pred zunanjimi vplivi ščiti več vrst fenotipsko različnega epitela (tj. roženični, limbalni in veznični epitel) (1). Pri obeh gre za hitro obnovljajoči se neporoženevajoči ploščati večskladni epitel ektodermalnega izvora. Veznični epitel je vaskulariziran in vsebuje čašaste celice, ki proizvajajo mucin (2). Roženični epitel za razliko od vezničnega ne vsebuje čašastih celic in leži neposredno na avaskularni stromi (3, 4). Roženica je lahko popolnoma prozorna le, če je epitel zdrav.

LIMBALNE EPITELNE MATIČNE CELICE

Limbalne epitelne matične celice (LEMC) omogočajo obnovo roženičnega epitela. Nahajajo se v roženičnem limbusu v Vogtovih palisadah v ustreznih podpornih mikro okoljih oz. nišah. Po klasični definiciji imajo matične celice nizko stopnjo diferenciranosti, počasen celični cikel, sposobnost samoobnove z asimetrično celično delitvijo, sposobnost klonogenosti in tvorbe hčerinskih celic. Hčerinske celice se nato hitro delijo in diferencirajo v določeno specializirano celično vrsto. Pod delovanjem dražljajev iz limbalnega mikrookolja se kot vse matične celice tudi oligopotentne

LEMC asimetrično delijo v hčerinsko celico, ki ostane v limbalni niši in ohrani matični potencial, in v hčerinsko celico, ki izgubi potencial neskončnega deljenja ter preide v prehodno hitro deljivo celico (*angl.* transitory amplifying cell, TAC) (5). Te celice se hitro delijo, zapuščajo limbalno nišo in potujejo centripetalno proti središču roženice in proti površini epitela (Thoftova XYZ-hipoteza) (6). Spremembe v zunajceličnem okolju tako stimulirajo diferenciacijo v terminalne postmitotične celice roženičnega epitela (5). Hipotezo o lokalizaciji roženičnih matičnih celic v predelu limbusa, koncept t. i. limbalne paradigme, sta v sedemdesetih letih 20. stoletja postavila Davanger in Evensen (7). Dokazala sta, da se v bazalnih slojih limbalnega epitela nahaja največje število roženičnih epitelnih matičnih celic. Hkrati ima limbus pomembno vlogo pregrade in preprečuje vraščanje vezničnega epitela na roženico (8). To paradigmo so nedavno omajala nova spoznanja, ki so podvomila o limbusu kot edini niši za roženične matične celice (9, 10). Čeprav so bile oligopotentne matične celice že najdene po celotni očesni površini sesalcev (10), limbus nedvomno predstavlja glavni vir roženičnih matičnih celic, ki so zato tudi imenovane limbalne matične celice (LEMC). Te so sposobne obnove roženične površine po večji poškodbi ali bolezni roženice (11, 12), kar podpira uspešno klinično uporabo presaditve limbalnih matičnih celic in celično osnovanih zdravljenj za rekonstrukcijo površine očesa (13, 14).

LIMBALNA NIŠA

Limbalne niše so posebna mikro okolja, v katerih se nahajajo in obnavljajo LEMC. To mikro okolje omogoča določena sestava zunajceličnega matriksa in medcelične povezave med epitelnimi matičnimi celicami in stromalnimi nišnimi celicami (mezenhimske, podporne) (15). Stik med celicami je omogočen skozi lokalne prekinitve bazalne membrane (16). V zadnjih letih so bile raziskave usmerjene v identifikacijo limbalnih mezenhimskih matičnih celic (LMMC), ki naj bi imele pomembno vlogo pri regeneraciji roženice (17). Mezenhimske limbalne celice proizvajajo rastne faktorje (npr. epidermalni in hepatocitni rastni faktor, faktor tumorske nekroze ...) in druge signalne molekule, ki imajo pomembno vlogo pri preživetju LEMC (18). V zadnjem desetletju so bile v limbusu odkrite tri različne niše

limbalnih matičnih celic (19): limbalne epitelne kripte (*angl.* limbal epithelial crypts-LEC), limbalne kripte (*angl.* limbal crypts, LC) in fokalni stromalni izrastki (*angl.* focal stromal projections, FSP) (20). Čeprav je bilo dokazano, da se vse tri limbalne niše večinoma nahajajo v zgornjem limbusu, število in lokacija niš matičnih celic še vedno nista popolnoma znana (19).

INSUFICIENCA LIMBALNIH MATIČNIH CELIC

Posledica pomanjkanja ali disfunkcije LEMC ali njihove niše je nezadostna obnova roženičnega epitela, kar se klinično imenuje insuficienca ali pomanjkanje limbalnih epitelnih matičnih celic (LSCD). Etiološko razlikujemo primarne in sekundarne (pridobljene) vzroke. Primarna LSCD je lahko povezana z nezadostnim stromalnim mikrookoljem za podporo pravilne funkcije matičnih celic, na primer pri aniridiji, multipli endokrini pomanjkljivosti in epidermalni displaziji (11). Pogosteje je LSCD sekundarna posledica zunanjih dejavnikov, kot so kemične ali toplotne opekline, okužbe, kirurški posegi na limbusu, neoplazme, obsevanje ali prekomerno nošenje mehkih kontaktnih leč, ki uničijo limbalne matične celice (8). Dolgotrajno imunsko vnetje očesne površine pri Stevens – Johnsonovem sindromu in napredovalem mukoznomembranskem očesnem pemfigoidu je vzrok obojestranske delne ali popolne LSCD, ki se jo težko zdravi.

1. Klinična slika LSCD

Zaradi nezadostne obnove roženične površine in izgube njene pregradne funkcije pride do rasti vezničnega epitela na roženično površino (konjunktivalizacije), ki ji sledi roženična vaskularizacija. Klinično se konjunktivalizacija roženice opazi kot prozorna ali neprozorna nekoliko nepravilna roženična površina, ki se s fluoresceinom neenakomerno barva. Dokler je na delu roženice, na katerega raste veznični epitel, prisoten tudi roženični epitel, opazimo mozaično barvanje s fluoresceinom. V napredovalih fazah se LSCD kaže kot fibrovaskularni panus (slika 1). Pri sočasnem izrazito suhem očesu nastane dermalizacija površine očesa. Ker je veznični in tudi mozaični epitel manj stabilen od roženičnega ter se počasneje celi, lahko že ob manjših vzrokih nastanejo razjede epitela, ki se počasi celijo in so podvržene okužbam. Za napredovalo LSCD je

značilno kronično vnetje, brazgotinjenje, poslabšanje vida, bolečine in pri napredovali bolezni roženična slepota (3, 8). Diagnozo bolezni postavimo na podlagi anamneze in klinične slike. Klinična diagnoza LSCD se lahko potrdi z impresijsko citologijo, konfokalno mikroskopija in optično koherentno tomografijo roženice.

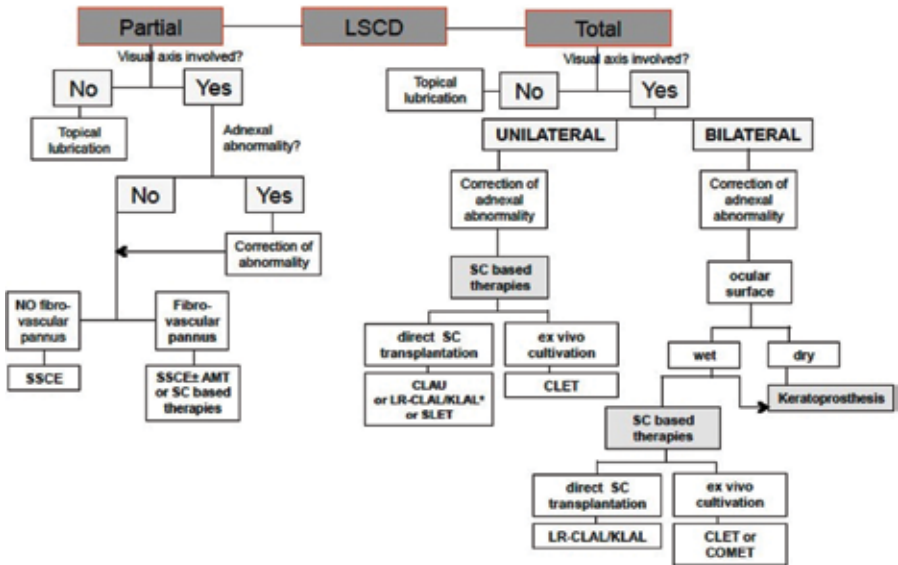


Slika 1: Popolna enostranska LSCD zaradi kemične poškodbe: konjunktivalizacija, vaskularizacija in brazgotinjenje roženice, kronično vnetje. Vir: Fotoarhiv Očesne klinike v Ljubljani.

ZDRAVLJENJE LSCD

Zdravljenje bolnikov z LSCD je odvisno od obsega prizadetosti limbusa na posameznem očesu in od tega, ali je prizadeto eno ali obe očesi (slika 2). Pomembno je, da se pred kakršnimikoli kirurškimi rekonstruktivnimi posegi najprej odpravijo abnormalnosti položaja vek in zdravi vnetje očesne površine. Izbira tehnike in uspešnost sta odvisna od vzroka LSCD, vnetja in suhosti očesne površine. Pri načrtovanju posega je treba upoštevati bolnikove sistemske bolezni in oceniti zmožnost za sistemsko imunosupresivno zdravljenje. Z bolnikom se je treba pogovoriti o njegovih

pričakovanjih, saj je rekonstrukcija očesne površine praviloma zahteven in dolgotrajen proces s slabo predvidljivimi izidi.



Slika 2: Trenutne možnosti zdravljenja LSCD. SSCE, sekvenčna sektorska veznična epiteliectomija, angl. sequential sector conjunctival epitheliectomy; CLAU, avtologni veznično-limbalni presadek, ang. conjunctival limbal autograft; LR-CLAL, veznično-limbalni presadek sorodnika, angl. living-related conjunctival limbal allograft; KLAL, keratolimbalni alogeni presadek, angl. keratolimbal allograft; SLET, enostavna limbalna epitelna presaditev, angl. simple limbal epithelial transplantation; CLET, presaditev gojenega limbalnega epitela, angl. cultivated limbal epithelial transplantation; COMET, presaditev gojenega epitela ustne sluznice, cultured oral mucosal epithelial transplantation. * LR-CLAL in KLAL sta alternativni za bolnike z enostransko popolno LSCD, ki ne želi odvzema tkiva na zdravem očesu. Vir: Lužnik in sodelavci (21).

1. Zdravljenje delne LSCD

Pri bolnikih brez simptomov in dobro vidno ostrino kirurški poseg ni indiciran in je potrebno le skrbeti oziroma zdraviti očesno površino z osnovnimi ukrepi, to so vlaženje očesne površine s pripravki brez

konzervsanov, redna nega vek, zdravljenje blefaritisa in zdravljenje vnetja očesne površine. Če je bolnik simptomatski in/ali je prizadeta vidna os, je treba kirurško odstraniti abnormalen epitel na površini roženice. Pri tem izkoriščamo dejstvo, da se roženični epitel zdravi v obliki jezika s področja zdravega limbusa. Na voljo imamo dve tehniki.

1.1 Sekvenčna sektorska veznična epiteliektomija

Pri metodi sekvenčne sektorske veznične epiteliektomije (*angl.* Sequential sector conjunctival epitheliectomy, SSCE) odstranimo veznični epitel z roženice z abrazijo in omogočimo epitelizacijo v obliki jezika s področja zdravega sosednjega limbusa. Abrazijo ponovimo ob vsakem ponovnem vraščanju vezničnega epitela na roženično površino, dokler roženica ni epitelizirana z roženičnim epitelom. Dua s sod. je poročal o uspešnem izboljšanju vida z uporabo te tehnike že pri ostanku samo dveh ur normalnega limbusa in perifernega dela roženice, saj je bil cilj normalen roženični epitel v vidni osi (8).

1.2 Metoda preusmeritve veznice s pomočjo amnijske membrane

Pri tehniki preusmeritve veznice s pomočjo amnijske membrane (*angl.* amnion-assisted conjunctival epithelial redirection, ACER) po abraziji vezničnega epitela s površine roženice preusmerimo rast vezničnih epitelnih celic stran od površine roženice (22). To naredimo tako, da amnijsko membrano (AM) prišijemo pod veznico, ko smo v področju abrazije roženice naredili sektorsko peritomijo (slika 3). Veznični epitel zato raste na AM, in ne na roženico. Amnijsko membrano, ki sega preko roženice, nato odstranimo.



Slika 3: *Levo: Delna LSCD. Rdeča prekinjena črta: Meja med vezničnim in roženičnim epitelom. Desno: Celotna roženica je epitelizirana z roženičnim epitelom po rekonstrukciji očesne površine s tehniko ACER. Vir: Fotoarhiv Očesne klinike v Ljubljani.*

2. Zdravljenje popolne LSCD

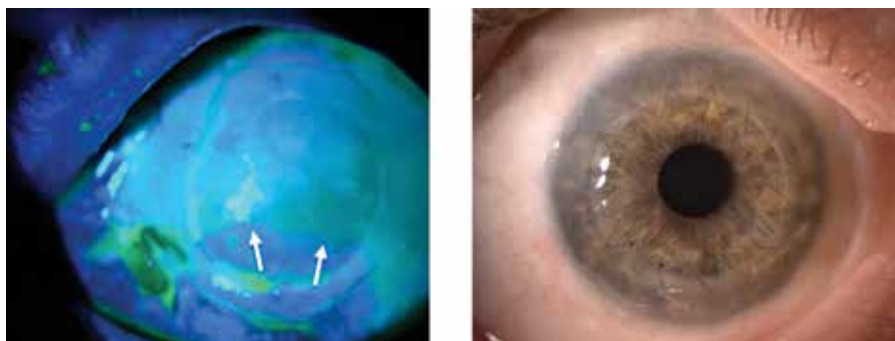
Kadar je pomanjkanje LEMC popolno, je potrebna presaditev LEMC za rekonstrukcijo očesne površine. Poznamo klasične kirurške pristope zdravljenja z neposredno presaditvijo limbalnega tkiva in zdravljenje s pomočjo presaditve *ex vivo* vzgojenega epitela. Glede na prizadetost enega ali obeh oces je presaditev lahko avtologna ali alogena tako pri klasični presaditvi limbusa kot pri gojenih epitelnih celicah.

2.1 Klasični pristop z neposredno presaditvijo limbalnega tkiva

2.1.1 Avtologni veznično-limbalni presadek

Avtologni veznično-limbalni presadek (*angl.* conjunctival-limbal autograft, CLAU) je tehnika izbora pri enostranski popolni insuficienci LEMC (23–29). To tehniko z neposredno presaditvijo limbusa sta leta 1989 uvedla Kenyon in Tseng (24). Na Očesni kliniki smo opravili že več uspešnih presaditev limbusa s tehniko CLAU pri bolnikih z enostranskim popolnim pomanjkanjem LEMC (23). Pri tej tehniki prenesemo dva veznično-limbalna presadka (vsak obsega 2 uri limbusa) z zdravega na prizadeto oko, ko smo s prizadete roženice odstranili veznični epitel in

fibrovaskularno tkivo (slika 4). Celotno očesno površino na prizadetem očesu in odvzemni mesti na zdravem očesu krijemo z amnijsko membrano (AM). Zaradi relativno velikega odvzemnega mesta lahko ta tehnika v redkih primerih povzroči iatrogeno pomanjkanje LEMC na zdravem očesu (27–30). Pri naših bolnikih nismo opažali iatrogenih poškodb na odvzemnem očesu. Za uspešnost CLAU je ključnega pomena tudi nadzor rasti vezničnega epitela in preprečevanje rasti na roženico, kot je prvi opisal Dua (31).



Slika 4: Levo: Izraščanje novega epitelijskega (puščice) iz spodnjega veznično-limbalnega presadka 3. dan po CLAU. Barvanje očesne površine s fluoresceinom. Desno: Roženica bolnika na sliki 1 po CLAU in naknadni presaditvi roženice – roženica in presadek roženice epitelizirana z gladkim in prozornim roženičnim epitelom. Vir: Fotoarhiv Očesne klinike v Ljubljani.

2.1.2 Veznično-limbalni presadek sorodnika

Pri obojestranski popolni prizadetosti oči je potrebna presaditev alogenega limbalnega tkiva, ki je pri tehniki veznično-limbalnega presadka sorodnika (*angl.* living-related conjunctival limbal allograft, LR-CLAL) darovano od živega sorodnika. Kirurška tehnika je enaka kot pri CLAU.

2.1.3 Enostavna presaditev limbalnega epitela

Leta 2012 je Sangwan s sod. predstavil tehniko, ki temelji na *in vivo* razraščanju epitelnih celic iz majhne biopsije limbalnega tkiva (32). Pri

enostavni presaditvi limbalnega epitela (*angl.* simple limbal epithelial transplantation, SLET) se odvzame majhno (2 × 2 mm) donorsko limbalno biopsijo iz zdravega očesa. Biopsija se deli na še manjše koščke, ki se spiralno razporedijo na očiščeno prizadeto roženico in pritrdijo s pomočjo amnijske membrane in fibrinskega lepila. Po presaditvi limbalne celice migrirajo iz biopsijskih koščkov in prekrijejo roženično površino. Vazirani s sod. je poročal o rezultatih avtologne SLET pri 68 bolnikih z enostransko LSCD s klinično uspešnostjo nad 80 % (33).

2.1.4 Keratolimbalni alogeni presadek

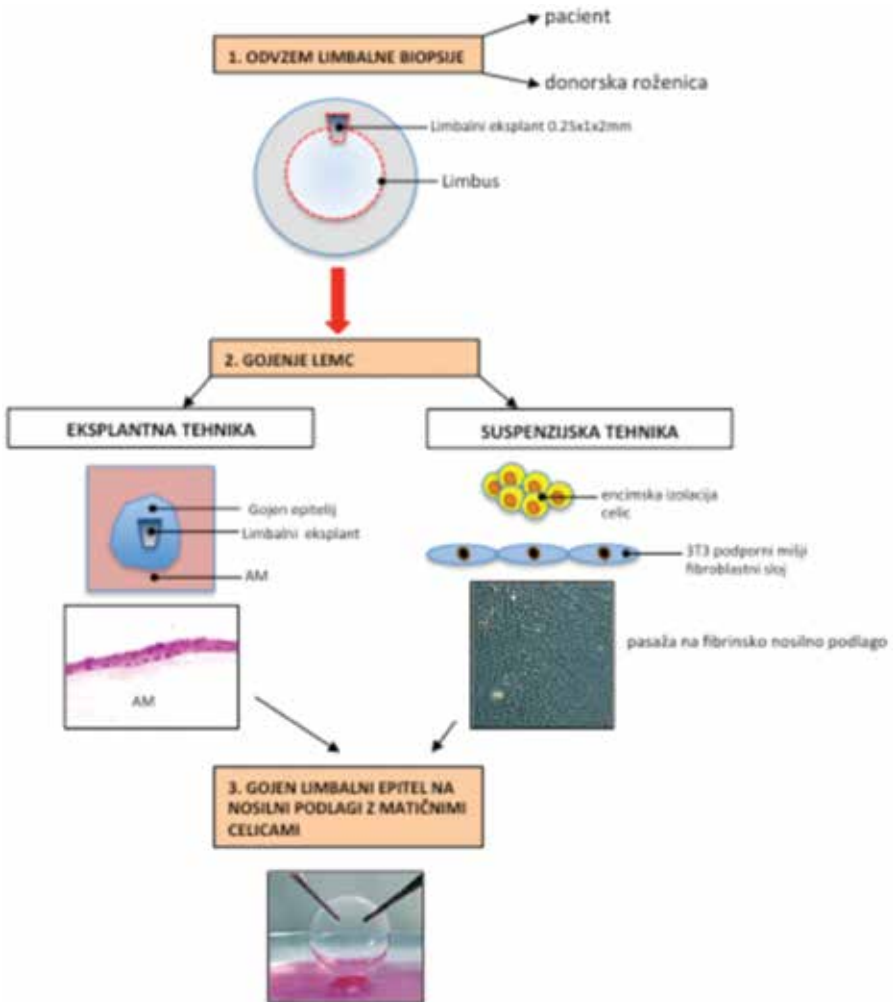
Keratolimbalni alogeni presadek (*angl.* keratolimbal allograft, KLAL) je tehnika neposredne presaditve limbusa pri obojestranski popolni LSCD, če ni možnosti darovanja sorodnika. Uporabi se kadaversko limbalno tkivo enega in pol korneoskleralnega obroča za presaditev celotnega limbusa na prizadetem očesu. Zaradi vaskularnosti in prisotnosti Langerhansovih celic v limbalnem območju ima limbalni alogeni presadek znatno večje tveganje za zavrnitev kot presadek roženice, čeprav gre prav tako za alogeno presaditev. Vsi bolniki po KLAL potrebujejo dolgotrajno sistemsko, pogosto dvotirno imunosupresivno zdravljenje. S kombinacijo mofetilmikofenolata in takrolimusa so nedavno poročali o najdlje preživelih presadkih po KLAL s stabilno površino očesa pri 32 od 53 oči (60 %) po desetih letih ali več. Imunosupresijo so prekinili pri 64 % teh bolnikov in poročali, da niso opazili resnih neželenih učinkov imunosupresije. Pri uporabi samo enega imunosupresiva (ciklosporin) je bila uspešnost KLAL znatno nižja, in sicer samo 23,7 % ± 17,7 % po petih letih (26, 34–36).

2.2 Presaditev *ex vivo* gojenega epitela

2.2.1 Presaditev *ex vivo* gojenega limbalnega epitela

Zaradi omenjenih omejitev klasičnega pristopa z neposredno presaditvijo limbalnega tkiva (predvsem razpoložljivost sorodnikovega limbalnega tkiva in tveganje za zavrnitev vaskulariziranega keratolimbalnega tkiva) se po svetu uveljavlja sodoben pristop zdravljenja LSCD s presaditvijo *ex vivo* gojenega limbalnega epitela (*angl.* cultivated limbal epithelial

transplantation, CLET) (37). LEMC se pridobi z biopsijo avtolognega ali alogenega limbalnega tkiva velikosti 1–2 mm². Pellegrini s sod. je leta 1997 prva opisala klinični primer uporabe CLET. Od takrat so se po svetu razvili številni protokoli gojenja limbalnega epitela (37–39). Prednosti CLET v primerjavi z neposredno presaditvijo limbusa sta manjša možnost iatrogenih poškodb na zdravem, donorskem očesu in manjša možnost zavrnitve kot pri KLAL. V raziskavah se je izkazalo, da limbalne matične celice v kulturi izgubijo del svojih imunogenih lastnosti. Za gojenje limbalno-roženičnega epitela se uporabljata dve tehniki: suspenzijska in eksplantna (biopsijska) (slika 5). Postopek pri obeh poteka v treh korakih: odvzem limbalnega tkiva (avtologno ali alogeno), priprava celičnih kultur in gojenje ter prenos ali presaditev gojenega tkiva na nosilni podlagi (najpogosteje fibrinska podlaga in AM) na obolelo oko. Celično kulturo testiramo z molekularnimi metodami za določitev vsebnosti LEMC (označevalce p63, CK3/12) in z mikrobiološkimi testi. Suspenzijska metoda omogoča uporabo natančnih testov določitve viabilnih LEMC v gojeni kulturi in tako zagotavlja natančno spremljanje kakovosti gojenega epitela. Glavna pomanjkljivost te metode je uporaba ksenogenega materiala. Da bi se temu izognili, se uveljavlja eksplantna tehnika gojenja limbalnega tkiva z uporabo človeške AM kot nosilne podlage. Glavna pomanjkljivost je nezmožnost uporabe testov za natančno določitev števila LEMC v gojenem epitelu, zato so potrebni posredni kriteriji kakovosti gojenega tkiva, npr. hitrost rasti gojenega epitela. Poročana dolgoročna uspešnost avtologne in alogene CLET je 70-odstotna (40, 41).



Slika 5: Shematski prikaz eksplantne in suspenzijske tehnike gojenja limbalnih epitelnih matičnih celic. AM, amnijska membrana. Vir: Doktorska disertacija Z. Lužnik Marzidovšek (42).

2.2.2 Presaditev epitela gojenih avtolognih celic ustne sluznice

Pri tehniki presaditve epitela gojenih avtolognih celic ustne sluznice (*angl.* Cultivated oral mucosal epithelial transplantation, COMET) se pod lokalno anestezijo odvzame biopsija (6–8 mm²) lastne bolnikove ustne sluznice. Epitelne celice se nato goji s suspenzijsko metodo. Po operaciji se roženico z gojenim epitelom zaščiti s terapevtsko kontaktno lečo. Čeprav je bila poročana uspešna rekonstrukcija roženične površine, gojeni epitelni presadki niso popolnoma enaki roženičnemu epitelu. Pogosti neželeni učinki posega so vztrajajoče epitelne razjede, keratomalacija, keratinizacija, periferna roženična neovaskularizacija, mikrobní keratitis, glavkom in povečano tveganje za suho oko. Satake s sod. je poročal o stabilizaciji površine očesa pri 65 % od 40 očes, kar se je zmanjšalo na 53 % po treh letih (43).

2.2.3 Druge možnosti gojenega epitela

Ricardo s sod. je poročal o vzpodbudnih rezultatih presaditve gojenih avtolognih vezničnih epitelnih celic (*angl.* autologous conjunctival epithelial cells cultivated *ex vivo*, EVCAU) s kliničnim izboljšanjem pri 83,3 % oči po 12 mesecih (44).

V zadnjem desetletju je bilo v eksperimentalnih modelih na živalih preizkušeni več alternativnih virov matičnih celic, kot so epitelne matične celice iz lasnih foliklov, amnijske epitelne celice, človeške embrionalne matične celice, inducirane pluripotentne matične celice (*angl.* induced pluripotent stem cells, iPSC), epitelne matične celice iz popkovine in mezenhimske matične celice (MSC). Človeške MSC iz kostnega mozga so uspešno rekonstruirale poškodovano roženično površino na živalskem modelu. Zanimive so tudi roženične in limbalne stromalne celice, ki se lahko diferencirajo v celice, podobne roženičnemu epitelu, če se gojijo v posebnih medijih.

ZAKLJUČEK

Insuficienca limbalnih epitelnih matičnih celic (LSCD) povzroča bolezen očesne površine zaradi nezadostne obnove roženičnega epitela. LSCD se pretežno zdravi kirurško z rekonstrukcijo očesne površine, na katero je

treba očesno površino predhodno dobro pripraviti. Dolgotrajno uspešne so avtologne presaditve LEMC bodisi v obliki limbalnega tkiva ali gojenega epitela. V razvoju so metode presaditve gojenega limbalnega epitela, ki bi omogočile dolgotrajno preživetje presajenih LEMC z manj zavrnitvenimi reakcijami v primeru alogene presaditve ter pomenile minimalno invazivni poseg na donorskem očesu. Raziskuje se tudi alternativne vire matičnih celic, kot so mezenhimske matične celice in inducirane pluripotentne matične celice.

LITERATURA

1. De Luca M, Pellegrini G, Green H. *Regeneration of squamous epithelia from stem cells of cultured grafts. Regen Med.* 2006;1(1):45–57.
2. Dua HS. *The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. Br J Ophthalmol.* 1998;82(12):1407–11.
3. Dua HS, Forrester JV. *The corneoscleral limbus in human corneal epithelial wound healing. Am J Ophthalmol.* 1990;110(6):646–56.
4. Dua HS, Gomes JA, Singh A. *Corneal epithelial wound healing. Br J Ophthalmol.* 1994;78(5):401–8.
5. Schlötzer-Schrehardt U, Kruse FE. *Identification and characterization of limbal stem cells. Exp Eye Res.* 2005;81:247–64.
6. Thoft RA, Friend J. *The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1983;24:1442–3.
7. Davanger M, Evensen A. *Role of the pericorneal papillary structure in renewal of corneal epithelium. Nature.* 1971;229(5286):560–1.
8. Dua HS, Saini JS, Azuara-Blanco A, Gupta P. *Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management. Indian J Ophthalmol.* 2000;48(2):83–92.
9. Dua HS, Miri A, Alomar T, Yeung AM, Said DG. *The role of limbal stem cells in corneal epithelial maintenance: testing the dogma. Ophthalmology.* 2009;116(5):856–63.
10. Majo F, Rochat A, Nicolas M, Jaoudé GA, Barrandon Y. *Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. Nature.* 2008;456(7219):250–4.
11. Haagdorens M, Van Acker SJ, Van Gerwen V, Ni Dhubhghail S, Koppen C, Tassignon MJ, et al. *Limbal Stem Cell Deficiency: Current Treatment Options and Emerging Therapies. Stem Cells Int.* 2016;2016:9798374.
12. Pellegrini G, Lambiase A, Macaluso C, Pocobelli A, Deng S, Cavallini GM, et al. *From discovery to approval of an advanced therapy medicinal product-containing stem cells, in the EU. Regen Med.* 2016;11(4):407–20.

13. Rama P, Bonini S, Lambiase A, Golisano O, Paterna P, De Luca M, et al. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation*. 2001;72(9):1478–85.
14. Pellegrini G, Rama P, Matuska S, Lambiase A, Bonini S, Pocobelli A, et al. Biological parameters determining the clinical outcome of autologous cultures of limbal stem cells. *Regen Med*. 2013;8(5):553–67.
15. Li W, Hayashida Y, Chen Y-T, Tseng SC. Niche regulation of corneal epithelial stem cells at the limbus. *Cell research*. 2007;17:26–36.
16. Dziasko MA, Armer HE, Levis HJ, Shortt AJ, Tuft S, Daniels JT. Localisation of epithelial cells capable of holoclone formation in vitro and direct interaction with stromal cells in the native human limbal crypt. *PLoS One*. 2014;9(4):e94283.
17. Hashmani K, Branch MJ, Sidney LE, Dhillon PS, Verma M, McIntosh OD, et al. Characterization of corneal stromal stem cells with the potential for epithelial transdifferentiation. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4:75.
18. González S, Deng SX. Presence of native limbal stromal cells increases the expansion efficiency of limbal stem/progenitor cells in culture. *Exp Eye Res*. 2013;116:169–76.
19. Molvaer RK, Andreasen A, Heegaard S, Thomsen JS, Hjortdal J, Urbak SF, et al. Interactive 3D computer model of the human corneolimbal region: crypts, projections and stem cells. *Acta Ophthalmol*. 2013;91(5):457–62.
20. Shortt AJ, Secker GA, Munro PM, Khaw PT, Tuft SJ, Daniels JT. Characterization of the limbal epithelial stem cell niche: novel imaging techniques permit in vivo observation and targeted biopsy of limbal epithelial stem cells. *Stem Cells*. 2007;25(6):1402–9.
21. Lužnik Z, Hawlina M, Ferrari S, Ponzin D, Schollmayer P. Ocular surface reconstruction in limbal stem cell deficiency: current treatment options and perspectives. *Expert Rev Ophthalmol*. 2016;12(1):43–56.
22. Dua HS, Ting DSJ, AlSaadi A, Said DG. Management of limbal stem cell deficiency by amnion-assisted conjunctival epithelial redirection using vacuum-dried amniotic membrane and fibrin glue. *Br J Ophthalmol*. 2023;107(3):342–8.
23. Schollmayer P, Lužnik Z. Conjunctival-limbal autograft in total unilateral limbal stem cell deficiency. *ZdravVestn*. 2017;86(7-8):266–75.
24. Kenyon KR, Tseng SCG. Limbal Autograft Transplantation for Ocular Surface Disorders. *Ophthalmology*. 1989;96(5):709–23.
25. Daya SM, Chan CC, Holland EJ. Cornea society nomenclature for ocular surface rehabilitative procedures. *Cornea*. 2011;30(10):1115–9.
26. Miri A, Al-Deiri B, Dua HS. Long-term Outcomes of Autolimbal and Allolimbal Transplants. *Ophthalmology*. 2010;117(6):1207–13.
27. Clinch TE, Goins KM, Cobo LM. Treatment of contact lens-related ocular surface disorders with autologous conjunctival transplantation. *Ophthalmology* 1992;99:634–8.
28. Mashima Y, Yamada M, Yamada H, Tsunoda K, Arimoto M. Limbal autograft transplantations for chronic ocular surface failures. *Jpn J Clin Ophthalmol*. 1993;47:607–10.
29. Jenkins C, Tuft S, Liu C, Buckley R. Limbal transplantation in the management of chronic contact-lens-associated epitheliopathy. *Eye (Lond)*. 1993;7(Pt 5):629–33.

30. Li W, Hayashida Y, He H, Kuo CL, Tseng SC. The fate of limbal epithelial progenitor cells during explant culture on intact amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(2):605–13.
31. Dua HS, Azuara-Blanco A. Autologous limbal transplantation in patients with unilateral corneal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:273–8.
32. Sangwan VS, Basu S, MacNeil S, Balasubramanian D. Simple limbal epithelial transplantation (SLET): a novel surgical technique for the treatment of unilateral limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol.* 2012;96(7):931–4.
33. Vazirani J, Mariappan I, Ramamurthy S, Fatima S, Basu S, Sangwan VS. Surgical Management of Bilateral Limbal Stem Cell Deficiency. *Ocul Surf.* 2016;14(3):350–64.
34. Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, et al. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N. Engl. J. Med. United States;* 1999;340(22):1697–703.
35. Solomon A, Ellies P, Anderson DF, Touhami A, Grueterich M, Espana EM, et al. Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology.* 2002;109(6):1159–66.
36. Ilari L, Daya SM. Long-term outcomes of keratolimbal allograft for the treatment of severe ocular surface disorders. *Ophthalmology.* 2002;109(7):1278–84.
37. Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet.* 1997;349(9057):990–3.
38. Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, Fullwood NJ, Dota A, Kinoshita S. Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea.* 2000;19(1):65–71.
39. Meller D, Pires RT, Tseng SC. Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial stem cells on amniotic membrane cultures. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(4):463–71.
40. Ahmad S, Osei-Bempong C, Dana R, Jurkunas U. The culture and transplantation of human limbal stem cells. *J Cell Physiol.* 2010;225(1):15-9.
41. Baylis O, Figueiredo F, Henein C, Lako M, Ahmad S. 13 years of cultured limbal epithelial cell therapy: a review of the outcomes. *J Cell Biochem.* 2011;112(4):993–1002.
42. Lužnik Marzidovšek Z. Vzgoja in opredelitev človeških limbalnih epitelijskih matičnih celic [doktorska disertacija]. Ljubljana: Z. Lužnik Marzidovšek; 2017.
43. Satake Y, Higa K, Tsubota K, Shimazaki J. Long-term outcome of cultivated oral mucosal epithelial sheet transplantation in treatment of total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology.* 2011;118(8):1524–30.
44. Ricardo JR, Cristovam PC, Filho PA, Farias CC, de Araujo AL, Loureiro RR, et al. Transplantation of conjunctival epithelial cells cultivated ex vivo in patients with total limbal stem cell deficiency. *Cornea.* 2013;32(3):221–8.

NEVROREGENERACIJA ROŽENICE

Katja Matovič¹, Mojca Globočnik Petrovič^{1,2}, Špela Štunf Pukl^{1,2}

¹Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

IZVLEČEK

Roženica je najgosteje oživčeno tkivo v telesu. Oživčenost roženice je pretežno senzorična in izvira iz oftalmičnega živca – prve veje trigeminalnega živca. Roženični nevroni preko refleksov solzenja in mežikanja ter preko sproščanja trofičnih nevromediatorjev vplivajo na homeostazo očesne površine. Lokalna in sistemska stanja, ki okvarijo trigeminalno oživčenost roženice na katerikoli stopnji, lahko privedejo do nastanka nevrotrofične keratopatije. Za slednjo sta značilni zmanjšana občutljivost roženice in okvara celjenja epitela, kar lahko privede do nastanka persistentnega epitelnega defekta, razjede in perforacije roženice. Večina terapevtskih pristopov je usmerjenih predvsem v celjenje epitela in preprečevanje napredovanja okvare, nekatere novejšje metode pa imajo tudi nevroregenerativni potencial. Med slednjimi so živčni rastni dejavniki, inzulin, nicergolin, krvni pripravki, amnijska membrana in kirurška nevrofizikalna roženica. Pri diagnostiki in vodenju bolnikov uporabljamo *in vivo* konfokalno mikroskopijo in esteziometrijo, ki omogočata funkcionalno in morfološko spremljanje oživčenosti roženice ter oceno nevroregenerativnega potenciala različnih terapevtskih pristopov.

Ključne besede: oživčenost roženice, občutljivost roženice, obnova oživčenosti, nevrotrofična keratopatija, živčni rastni dejavniki

UVOD

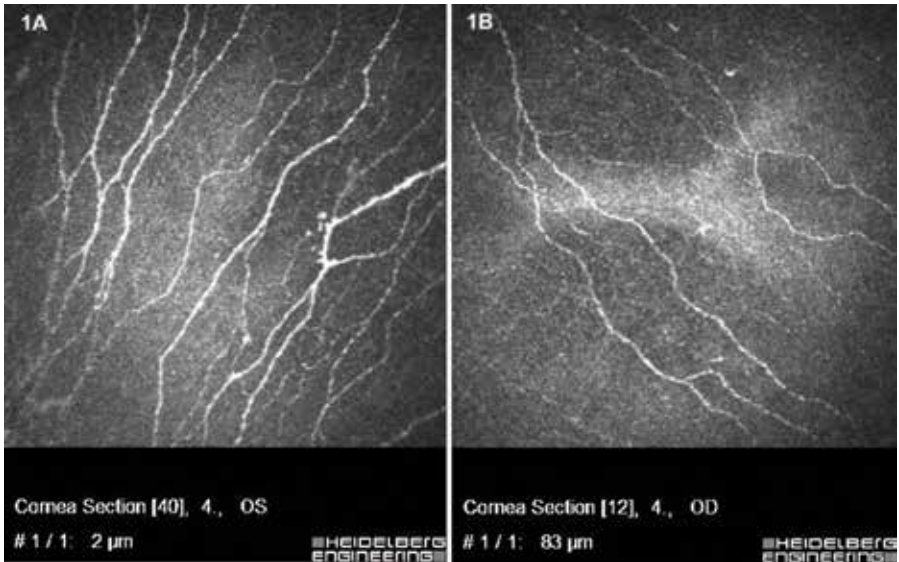
Roženica je prozorno, avaskularno in najgosteje oživčeno tkivo v telesu (1–4). Oživčenost roženice je pretežno senzorična in izvira iz oftalmične veje

trigeminalnega živca. Živčna vlakna vstopijo v roženico ob limbusu, izgubijo mielinsko ovojnico in potekajo radialno in anteriorno (1–3, 5). V svojem poteku tvorijo stromalni, subepitelni in subbazalni živčni pletež, ki se nahaja med Bowmanovo membrano in bazalnimi celicami epitela roženice ter oživčuje roženični epitel (1, 2, 3, 5). Avaskularna roženica prejema hranila in trofične dejavnike ne le iz solznega filma in prekatne vodke, temveč tudi iz roženičnih nevronov (3). Nevroni in epitelne celice roženice izvajajo vzajemno podporo (3, 6). Oživčenost roženice je vključena v vzdrževanje homeostaze in obnovo očesne površine z refleksoma mežikanja in soljenja ter s sproščanjem trofičnih nevromediatorjev, roženični epitel pa sprošča nevrotrofične dejavnike za vzdrževanje in obnovo nevronov roženice (1, 2, 3, 6). Roženica je ob avaskularnosti, prozornosti in gosti oživčenosti uporaben model za raziskave regenerativne medicine, pri čemer je oživčenost roženice in njeno obnovo mogoče ocenjevati tako morfološko z *in vivo* konfokalno mikroskopijo (IVKM) kot funkcionalno z esteziometrijo (2). Človeški model zmanjšane oživčenosti roženice predstavlja nevrotrofična keratopatija (NK) (2).

NEVROTROFIČNA KERATOPATIJA

NK je degenerativna bolezen roženice, za katero je značilna delna ali popolna izguba senzorične oživčenosti roženice in s tem roženične občutljivosti. Vodi v zmanjšanje zaščitnih roženičnih refleksov in trofičnih nevromediatorjev ter s tem v okvaro roženičnega epitela (5, 7). Je redko, a resno stanje z globalno prevalenco 1–5/10.000 prebivalcev, epidemiološki podatki za Evropo poročajo o prevalenci 1/2380, je pa bolezen pogosto neprepoznana (1). NK je lahko posledica prirojenih okvar, očesne patologije, nevroloških stanj in operacij ter sistemskih bolezni, kot je sladkorna bolezen (5–7). Najpogostejši vzrok je herpetična okužba očesa (5, 8). Okvaro roženične oživčenosti in nastanek NK lahko povzročijo tudi kirurški posegi na roženici, kot so refraktivni kirurški posegi in presaditve roženice (5). Različna stopnja obnove živčnih vlaken in občutljivosti roženice po posegih poteka postopno in traja več mesecev (5). Drugi očesni vzroki so poškodbe roženice, roženične distrofije, nošnja kontaktnih leč in kronično topikalno zdravljenje (5).

Etiološka opredelitev je pri NK pomembna, a je klinična slika NK neodvisna od etiologije (3). Zanja sta značilni znižana občutljivost roženice in okvara celjenja roženičnega epitela. Občutljivost roženice je mogoče določiti kvalitativno ob dotiku z vatirano palčko ali kvantitativno z uporabo esteziometra Cochet – Bonnet (Western Ophthalmics Corporation, Lynnwood, Washington, ZDA) ali nekontraktnih esteziometrov. IVKM lahko prikaže različne strukture roženice in parametri subbazalnega živčnega pleteža roženice po IVKM korelirajo z znižanjem njene občutljivosti (slika 1). Poleg tega je z zmanjšanim oživčenjem roženice povezana znižana gostota endotelnih celic roženice, kar kaže na vlogo roženičnih živcev tudi pri vzdrževanju endotelnih celic roženice (8, 9). Simptomi so odvisni od stopnje NK in okvare roženične občutljivosti ter so lahko nesorazmerni s kliničnimi znaki. Po klasifikaciji Mackie se NK deli na tri stopnje (10). Pri prvi gre za nepravilnosti roženičnega epitela, pri drugi je prisoten persistenten epitelni defekt, pri tretji pa gre za roženično razjedo s prizadetostjo strome, kar lahko vodi do perforacije roženice (7). Novejša kalsifikacija predlaga 6 stopenj (11). Pri prvi gre za zmanjšano občutljivost roženice brez keratopatije, pri drugi za epiteliopatijo brez prizadetosti strome, pri tretji za persistentni ali rekurentni epitelni defekt brez prizadetosti strome, pri četrti stopnji je okvari epitela pridružena stromalna zamotnitev (t. i. haze), pri peti je prisotna roženična razjeda, pri šesti pa roženična perforacija.



Slika 1: Prikaz subbazalnega živčnega pleteža z *in vivo* konfokalno mikroskopijo (HRT III Rostock Cornea Module; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Nemčija). 1A: Večja gostota živčnih vlaken. 1B: Manjša gostota živčnih vlaken (Vir: Arhiv Očesne klinike, Univerzitetni klinični center Ljubljana).

ROŽENIČNA NEVROREGENERACIJA

Zdravljenje NK v klinični praksi deluje predvsem na epitelizacijo roženice in preprečevanje napredovanja okvare, nekateri novejši terapevtski pristopi in različne klinične raziskave pa so usmerjeni tudi v obnovo oživitvenosti in občutljivosti roženice (5, 7, 8). V nadaljevanju so predstavljene terapevtske možnosti z nevroregenerativnim potencialom.

Živčni rastni dejavnik

Živčni rastni dejavnik (*angl.* Nerve growth factor, NGF) je nevrotrofin, ki spodbuja rast in obnovo nevronov, topično zdravljenje z NGF pa predstavlja obetavno zdravljenje za obnovo oživitvenosti roženice. Raziskave so pokazale, da spodbuja celjenje očesne površine, izboljša občutljivost,

oživčenost roženice in tvorbo solz (2, 5, 12). Potencialni učinek NGF na nevroregeneracijo je bil ugotovljen tudi pri več drugih boleznih, kot so diabetična, travmatska in toksična nevropatija (2). Topikalni rekombinantni humani NGF, cenegermin 20 µg/ml (Oxervate, Dompé Farmaceutici SpA, Milan, Italija), je od leta 2017 na evropskem trgu registriran za zdravljenje nevrotrofične keratopatije. Gre za relativno dobro tolerirano, a cenovno težko dostopno zdravljenje (1).

Inzulin

Inzulin je peptid, soroden inzulinu – podobnemu rastnemu dejavniku (*angl.* Insulin-like growth factor, IGF), ki s substanco P sinergistično deluje na epitelizacijo roženice (1, 2). Raziskave so pokazale, da inzulin spodbuja epitelizacijo roženice, poleg tega pa vpliva na izboljšanje njene občutljivosti in oživčenosti (13, 14). Randomizirana klinična raziskava je pokazala, da je bila nižja koncentracija inzulina (0,5 enot/kapljico) učinkovitejša od višjih koncentracij ali placeba, pri čemer gre morebiti za negativen vpliv višje viskoznosti zdravila pri višjih koncentracijah (15). Topikalni inzulin je dostopen kot magistralni pripravek, dobro prenosljiv in pri koncentracijah do 100 enot/ml ne povzroča očesnih stranskih učinkov (1, 16).

Nicergolin

Nicergolin je zdravilo, ki se uporablja za zdravljenje degenerativne in vaskularne demence (1, 5). Raziskava na živalskem modelu je pokazala, da nicergolin spodbuja celjenje roženice in poveča nivo NGF v solznem filmu (17). Ob peroralni uporabi nicergolina pri bolnikih z NK je prišlo do izboljšanja celjenja očesne površine, povečanja nivoja NGF in povečanja občutljivosti roženice (18).

Krvni pripravki

Krvni pripravki za topikalno očesno uporabo so bodisi avtolognega izvora, izdelani iz bolnikove periferne krvi, kar vključuje avtologni serum, trombocitno plazmo, plazmo, bogato z rastnimi dejavniki, in lizat trombocitov, ali so homolognega izvora, kot velja za alogeni serum in popkovnični serum (1). Omenjeni pripravki vsebujejo številne biokemične

komponente, rastne dejavnike, nevromediatorje in vitamine, ki ugodno vplivajo na očesno površino (1, 19).

Avtologni serum se v oftamologiji že vrsto let uspešno uporablja za zdravljenje bolezni očesne površine. Ima podobno sestavo, osmolarnost in pH kot solze ter vsebuje rastne dejavnike, nevromediatorje, citokine in vitamine, ki spodbujajo celjenje epitela očesne površine (5, 8). Nekatere raziskave so pokazale tudi vpliv avtolognega seruma na izboljšanje občutljivosti in oživčenosti roženice (19–22).

Trombocitna plazma (*angl.* platelet rich plasma, PRP) prav tako vsebuje številne rastne dejavnike, vključno z NGF in IGF, in učinkovito deluje na celjenje očesne površine (23).

Popkovnični serum vsebuje višjo koncentracijo rastnih dejavnikov, tudi NGF, kot periferna kri (1). Vpliva na celjenje roženice, izboljša oživčenost roženice, a je njena uporaba količinsko in cenovno omejena (1, 24, 25).

Amnijska membrana

Amnijska membrana (AM) se že vrsto let uspešno uporablja za zdravljenje bolnikov z okvaro očesne površine, vključno z NK. Vsebuje različne rastne dejavnike, citokine in vazoaktivne peptide (26, 27). Poleg mehanične podpore deluje protivnetno, protimikrobno, preprečuje brazgotinjenje in angiogenezo (26–30). V zadnjih letih je bilo objavljenih več manjših kliničnih raziskav o ekstraktu amnijske membrane, ki se uporablja topikalno v obliki očesnih kapljic.

Številne raziskave so ugotovile vpliv AM na epitelizacijo očesne površine, nekatere pa so nakazale tudi njen nevroregenerativni potencial bodisi z izboljšanjem občutljivosti ali oživčenosti roženice (31–33).

Nevrotizacija roženice

Nevrotizacija roženice je kirurški poseg. Lahko je neposredna ali posredna. Pri neposredni gre za transpozicijo kontra- ali ipsilateralnega supraorbitalnega ali supratrohlearnega živca, pri posredni pa za presadek, običajno suralnega, živca (5, 34).

Tako posredna kot neposredna nevrotizacija roženice povečata celjenje očesne površine, izboljšata občutljivost in oživčenost roženice, do katere

pride po več mesecih (8, 34, 35). Gre za tehnično zahtevno metodo s tveganjem za kirurške zaplete.

ZAKLJUČEK

Roženica predstavlja edinstven model za spremljanje morfologije in funkcije oživčenosti ter za oceno nevroregenerativnega potenciala različnih terapevtskih pristopov. V zadnjih letih so bile opravljene številne raziskave z različnimi trofičnimi dejavniki, ki so ob NK ugodno vplivali na celjenje očesne površine, le redki pa so pokazali tudi nevroregenerativni potencial. Zaradi pomanjkanja zdravil, ki bi delovala na patogenetske mehanizme nastanka NK, je obravnava bolnikov z NK otežena. Razvoj novih molekul in metod zdravljenja, ki bi spodbujale nevroregeneracijo roženice, se izvaja tudi pri nas z namenom izboljšanja klinične obravnave bolnikov in izidov bolezni.

LITERATURA

1. Vera-Duarte GR, Jimenez-Collado D, Kahuam-López N, Ramirez-Miranda A, Graue-Hernandez EO, Navas A, Rosenblatt MI. Neurotrophic keratopathy: General features and new therapies. *Surv Ophthalmol.* 2024; 69:789–804.
2. Sacchetti M, Lambiase A. Neurotrophic factors and corneal nerve regeneration. *Neural Regen Res.* 2017; 12(8):1220–24.
3. Mastropasqua L, Massaro-Giordano G, Nubile M, Sacchetti M. Understanding the Pathogenesis of Neurotrophic Keratitis: The Role of Corneal Nerves. *J Cell Physiol.* 2017; 232:717–24.
4. Shih KC, Lam KS, Tong L. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutr Diabetes.* 2017; 7:e251.
5. Versura P, Giannaccare G, Pellegrini M, Sebastiani S, Campos EC. Neurotrophic keratitis: current challenges and future prospects. *Eye Brain.* 2018; 10:37–45.
6. Mead OG, Tighe S, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for managing dry eye and neurotrophic keratitis. *Taiwan J Ophthalmol.* 2020; 10:13–21.
7. Koay SY, Larkin DFP. New Pharmacological Approaches for the Treatment of Neurotrophic Keratitis. *Front Pharmacol.* 2022; 13:796854.
8. NaPier E, Camacho M, McDevitt TF, Sweeney AR. Neurotrophic keratopathy: current challenges and future prospects. *Ann Med.* 2022; 54:666–73.
9. Lambiase A, Sacchetti M, Mastropasqua A, Bonini S (2013) Corneal changes in neurosurgically induced neurotrophic keratitis. *JAMA Ophthalmol* 131:1547–53.
10. Mackie IA. Neuroparalytic keratitis. In: Fraunfelder F, Roy FH, Meyer SM, eds. *Current Ocular Therapy.* Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995:452–4.

11. Neurotrophic Keratopathy Study Group. Neurotrophic keratopathy: An updated understanding. *Ocul Surf.* 2023 Oct;30:129–38.
12. Mastropasqua L, Lanzini M, Dua HS, D' Uffizi A, Di Nicola M, Calienno R, Bondì J, Said DG, Nubile M. In Vivo Evaluation of Corneal Nerves and Epithelial Healing After Treatment With Recombinant Nerve Growth Factor for Neurotrophic Keratopathy. *Am J Ophthalmol.* 2020;217:278–86.
13. Wang AL, Weinlander E, Metcalf BM, Barney NP, Gamm DM, Nehls SM, Struck MC. Use of Topical Insulin to Treat Refractory Neurotrophic Corneal Ulcers. *Cornea.* 2017;36:1426–8.
14. Krolo I, Behaegel J, Termote K, de Bruyn B, De Schepper M, Oellerich S, Ní Dhubhghaill S. The role of topical insulin in ocular surface restoration: A review. *Surv Ophthalmol.* 2024; 69:805–17.
15. Dasrihsyah AM, Wan Abdul Halim WH, Mustapha M, Tang SF, Kaur B, Ong EY, Bastion MLC. Randomized Clinical Trial of Topical Insulin Versus Artificial Tears for Healing Rates of Iatrogenic Corneal Epithelial Defects Induced During Vitreoretinal Surgery in Diabetics. *Cornea.* 2023;42:1395–403.
16. Bartlett JD, Turner-Henson A, Atchison JA, Woolley TW, Pillion DJ. Insulin administration to the eyes of normoglycemic human volunteers. *J Ocul Pharmacol.* 1994;10(4):683–90.
17. Kim SY, Choi JS, Joo CK. Effects of nicergoline on corneal epithelial wound healing in rat eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Feb; 10.1167/iovs.08-2037., 50(2):621–5.
18. Lee YC, Kim SY. Treatment of neurotrophic keratopathy with nicergoline. *Cornea.* 2015; 34:303–7.
19. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, Tsubota K. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology.* 2004;111:1115–20.
20. Rao K, Leveque C, Pflugfelder SC. Corneal nerve regeneration in neurotrophic keratopathy following autologous plasma therapy. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(5):584–91.
21. Abedi F, Hamrah P. Corneal Subbasal Nerve Recovery in an Acute Case of Ultraviolet Keratitis Treated with Autologous Serum Eye Drops. *J Ophthalmol.* 2018;2018:4905487.
22. Aggarwal S, Kheirkhah A, Cavalcanti BM, Cruzat A, Colon C, Brown E, Borsook D, Prüss H, Hamrah P. Autologous Serum Tears for Treatment of Photoallodynia in Patients with Corneal Neuropathy: Efficacy and Evaluation with In Vivo Confocal Microscopy. *Ocul Surf.* 2015;13:250–62.
23. Koay SY, Larkin DFP. New Pharmacological Approaches for the Treatment of Neurotrophic Keratitis. *Front Pharmacol.* 2022; 13:796854.
24. Dua HS, Said DG, Messmer EM, Rolando M, Benitez-Del-Castillo JM, Hossain PN, Shortt AJ, Geerling G, Nubile M, Figueiredo FC, Rauz S, Mastropasqua L, Rama P, Baudouin C. Neurotrophic keratopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2018; 66:107–31.
25. Giannaccare G, Buzzi M, Fresina M, Velati C, Versura P. Efficacy of 2-month treatment with cord blood serum eye drops in ocular surface disease: an in vivo confocal microscopy study. *Cornea.* 2017; 36:915–21.
26. Mead OG, Tighe S, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for managing dry eye and neurotrophic keratitis. *Taiwan J Ophthalmol.* 2020;10:13-21.

27. Jirsova K, Jones GLA. Amniotic membrane in ophthalmology: properties, preparation, storage and indications for grafting-a review. *Cell Tissue Bank*. 2017; 18:193–204.
28. Cirman T, Železnik Ramuta T, Lužnik Z, Hawlina M, Schollmayer P, Smrke D, Erdani-Kreft M. Amnijska membrana kot biološki nosilec, njena priprava in uporaba v regenerativni medicini v Sloveniji. *Zdravniški vestnik*. 2018; 87:530–46.
29. Ramuta TŽ, Tratnjek L, Janev A, Seme K, Starčič Erjavec M, Kreft ME. The Antibacterial Activity of Human Amniotic Membrane against Multidrug-Resistant Bacteria Associated with Urinary Tract Infections: New Insights from Normal and Cancerous Urothelial Models. *Biomedicines*. 2021;9:218.
30. Hu Z, Luo Y, Ni R, Hu Y, Yang F, Du T, Zhu Y. Biological importance of human amniotic membrane in tissue engineering and regenerative medicine. *Mater Today Bio*. 2023; 22:100790.
31. Dogru M, Yildiz M, Baykara M, Ozçetin H, Ertürk H. Corneal sensitivity and ocular surface changes following preserved amniotic membrane transplantation for nonhealing corneal ulcers. *Eye (Lond)*. 2003; 17:139–48.
32. John T, Tighe S, Sheha H, Hamrah P, Salem ZM, Cheng AMS, Wang MX, Rock ND. Corneal Nerve Regeneration after Self-Retained Cryopreserved Amniotic Membrane in Dry Eye Disease. *J Ophthalmol*. 2017; 2017:6404918.
33. Morkin MI, Hamrah P. Efficacy of self-retained cryopreserved amniotic membrane for treatment of neuropathic corneal pain. *Ocul Surf*. 2018; 16:132–8.
34. Fogagnolo P, Giannaccare G, Bolognesi F, Digiuni M, Tranchina L, Rossetti L, Dipinto A, Allevi F, Lozza A, Rabbiosi D, Mariani S, Pellegrini M, Cazzola FE, Bagaglia S, Mazzotta C, Gabriele G, Gennaro P, Badiali G, Marchetti C, Campos EC, Biglioli F. Direct Versus Indirect Corneal Neurotization for the Treatment of Neurotrophic Keratopathy: A Multicenter Prospective Comparative Study. *Am J Ophthalmol*. 2020; 220:203–14.
35. Catapano J, Fung SSM, Halliday W, Jobst C, Cheyne D, Ho ES, Zuker RM, Borschel GH, Ali A. Treatment of neurotrophic keratopathy with minimally invasive corneal neurotisation: long-term clinical outcomes and evidence of corneal reinnervation. *Br J Ophthalmol*. 2019; 103:1724–31.

SUHE IN RAZDRAŽENE OČI THEALOZ® DUO POMIRI.

Edinstvena
kombinacija
trehaloze 3 %
in hialuronske
kisline.

Klinično
dokazan
učinek.

Kapljice
za oči
št. 1
v Evropi*

www.mojeoko.si

Na voljo v lekarnah in specializiranih prodajalnah.

Théo
let's open our eyes

INSPHARMA d.o.o.
Leskovaška cesta 9C
1000 Ljubljana
info@inspharma.com

inspharma
inspiring health

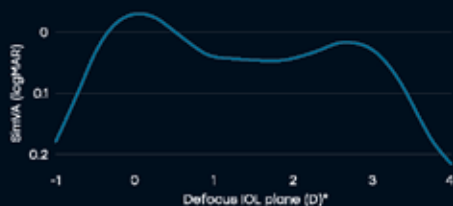


GALAXY

THE SPIRAL IOL

Full range. Less halo.

The new **RayOne Galaxy spiral IOL** delivers a full range of vision with minimised dysphotopsia like an enhanced monofocal – achieved through a non-diffractive spiral optic for 0% light loss, that progressively elongates focus*.



Available immediately in toric powers.

Discover more at rayner.com/Galaxy
info@medops.si

 **Rayner**

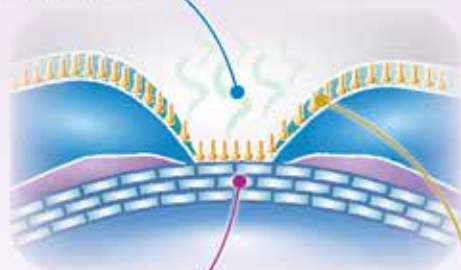
MEDOPS 

*Rayner, 2024 – R&D data on file. Users must refer to the product 'instructions for use' in all cases – www.rayner.com/ifu.
©2024 Rayner, all rights reserved. Rayner, RayOne and Galaxy are proprietary marks of Rayner. Rayner, 10 Dominion Way, Worthing, West Sussex, BN14 8AQ. Registered in England: 615539. EC 2024-133 07/24

NEOVIS® TÔTAL

Ne pustite, da solzni film
izhlapi v zrak*!

1. Nadomešča^{2,3}
pomanjkanje
vodnega sloja



3. Ščiti^{4,5,6} celice pred
oksidativnim stresom

2. Obnavlja¹
lipidni sloj

Rok uporabe
po odprtju:
4 mesece

Pred uporabo
pretresite!



Lahko se uporablja skupaj
s kontaktnimi lečami.

NEOVIS® TÔTAL

Multi 15 ml



+ BOLJ EKONOMIČNO *
+ BOLJ ZELENO PAKIRANJE *

hiposmolarna emulzija za vlaženje oči z lipidi

TRIGLICERIDI + FOSFOLIPIDI

- Obnova lipidnega sloja¹
- Omejitev izhlapevanja¹

HIALURONSKA KISLINA

- Visoka koncentracija: 0,18 %
- Obnova vodnega sloja²
- Visoka molekulska masa: 1.234 kDa
- Mukomimetično delovanje²
- Moduliranje vnetja³

ALFA LIPOJSKA KISLINA

- Proti-oksidantno delovanje^{4,5}
- Proti-apoptozno delovanje⁶

BREZ KONZERVANSOV
IN POVRŠINSKO AKTIVNIH SNOV!



Medicinski pripomoček razreda IIB z oznako CE0459.

Samo za strokovno javnost. Za več informacij glejte navodilo za uporabo.



Proizvajalec:
Horus Pharma s.a.s.,
22, Allée Camille MIFFAT, Ined 5
06200 Nice, France



Distributer:
Optimed medical d.o.o.,
Litostrojska cesta 44 c
1000 Ljubljana, Slovenija

Reference:





ROSE K2™
ROSE K2 NC™
ROSE K2 PG™
ROSE K2 IC™

The ROSE K2 Family of Designs

Keratoconus - Nipple Cone - Post Graft - Irregular Cornea

Rose K2 poltrde kontaktne leče so MP z oznako CE0483, proizvajalec Menicon Co. Ltd., Japonska s pooblaščenim predstavnikom Menicon B.V., Nizozemska in oznako CE1639, proizvajalec Menicon Ltd., Velika Britanija s pooblaščenim predstavnikom Advena Ltd., Malta. Distributer za Slovenijo: Optimed medical d.o.o., Litostrojska cesta 44 c, 1000 Ljubljana.



LUMIBIRD®
MEDICAL

Lighting the way in
patient care

www.lumibirdmedical.com

ellex®

OPTOTEK®
MEDICAL

Quante®
medical



Ješetov dan

Očesna klinika UKC Ljubljana