

(16)

Zastosowanie sieciowania włókien kolagenowych rogówki w schorzeniach innych niż stożek rogówki

The application of corneal collagen cross-linking in diseases other than keratoconus

Ewa Mrukwa-Kominek^{1,2}, Łukasz Drzyzga², Anna Rogowska-Godela², Ewa Porwik^{1,2}

¹ Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

² Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 5 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wanda Romaniuk

Streszczenie:	<p>Sieciowanie włókien kolagenowych rogówki jest metodą leczenia wykorzystującą promieniowanie ultrafioletowe oraz substancję fotocuczalającą – ryboflawinę, która wzmacnia połączenia chemiczne we włóknach kolagenowych istoty właściwej rogówki. Leczenie to ma na celu zahamowanie progresji schorzeń przebiegających z nieregularną krzywizną rogówki i jej zmniejszoną grubością, określanymi mianem ektaзии rogówki. Najczęstszym wskazaniem do sieciowania włókien kolagenowych jest stożek rogówki. Obecnie wskazania te rozszerzają się na schorzenia inne niż stożek rogówki.</p> <p>Celem pracy jest przybliżenie możliwości zastosowania zabiegu sieciowania włókien kolagenowych w przypadkach schorzeń innych niż stożek rogówki (zwyrodnienia brzeźnego przezroczystego oraz ektaзии rogówki po zabiegach refrakcyjnych), a także zastosowania zabiegów łączonych sieciowania włókien kolagenowych rogówki z zabiegami fotokeratektomii refrakcyjnej opartej na topografii rogówki w przypadkach, kiedy topografia wskazuje, że istnieje ukryta forma stożka rogówki (forme fruste keratoconus). Poza tym w pracy omawiane są efekty zastosowania zabiegu sieciowania włókien kolagenowych rogówki w leczeniu wspomagającym jej zapalenia i owrzodzeń oraz obrzęku w keratopatii pęcherzowej.</p> <p>Autorzy zwracają uwagę na znaczenie zabiegu w praktyce klinicznej oraz potencjalne zastosowanie zabiegu i modyfikacji jego protokołów w leczeniu schorzeń rogówki innych niż stożek.</p>
Słowa kluczowe:	<p>sieciowanie włókien kolagenowych rogówki – CXL, stożek rogówki, ektaзия rogówki, owrzodzenie rogówki, zwyrodnienie brzeźne przezroczyste.</p>
Summary:	<p>Corneal collagen cross-linking is a method of treatment using ultraviolet radiation UVA and photosensitizing substance riboflavin to strengthen the chemical connections between the collagen fibers of corneal stroma. This treatment is focused on halting the progression of the diseases, called ectasias, characterized by irregular curvature and diminished thickness of the cornea. The most common indication for corneal collagen cross-linking is keratoconus. However, this technique may be also applied to pathologies other than keratoconus. The aim of this paper is to review the applicability of corneal collagen cross-linking in other conditions than keratoconus. Specifically, the conditions such as pellucid marginal degeneration, post refractive surgery ectasia as well as combined corneal collagen cross-linking and topography-based photorefractive keratectomy for topographies indicating forme fruste keratoconus are discussed. In addition, the effects of corneal collagen cross-linking as an adjunctive therapy in keratitis, corneal ulcers and corneal edema in bullous keratopathy are considered.</p> <p>The authors highlight the importance of treatment in clinical practice and the potential application of the treatment and modification of the protocols in the treatment of corneal diseases other than keratoconus.</p>
Key words:	<p>corneal collagen cross-linking – CXL, keratoconus, corneal ectasia, corneal ulcer, pellucid marginal degeneration.</p>

Wprowadzenie

Sieciowanie włókien kolagenowych rogówki (cross-linking – CXL) jest metodą leczenia wykorzystującą promieniowanie ultrafioletowe (UVA) oraz substancję fotocuczalającą, ryboflawinę, w celu wzmocnienia połączeń chemicznych we włóknach kolagenowych istoty właściwej rogówki.

Leczenie za pomocą tej techniki ma na celu zahamowanie progresji schorzeń przebiegających z nieregularnymi krzywizną i grubością rogówki, określanymi mianem ektaзии. Cechą charakterystyczną ektaзии rogówki są ścieńczenie tkanki i wzrost

przedniej i/lub tylnej krzywizny rogówki, często prowadzące do wysokiego rzędu krótkowzroczności i nieregularnego astygmatyzmu. Najczęstszą formą ektaзии, a zarazem najczęstszym wskazaniem do CXL, jest stożek rogówki.

Prace nad podstawami biotechnologicznymi zabiegu cross-linking zostały zapoczątkowane przez badaczy z Uniwersytetu Technicznego w Dreźnie w latach 90. minionego stulecia, którzy początkowo prowadzili je na zwierzętach. Ponieważ wyniki badań przedklinicznych były zachęcające, w 2003 roku badaniem pilotażowym objęto grupę 16 pacjentów z gwałtownie postępu-

jącym stożkiem rogówki. Wyniki badania pilotażowego potwierdziły wcześniejsze obserwacje.

Biochemiczne zmiany w istocie właściwej rogówki po zabiegu to zagęszczenie macierzy międzykomórkowej, zmiany podnabłonkowych spłotów nerwowych oraz gęstości keratocytów. Ryboflawina absorbuje promieniowanie UVA (absorpcja optymalna przy długości fali 370 nm) i działa fotouczulająco. Pod wpływem promieniowania UVA ryboflawina uwalnia wzbudzonego atom tlenu, a wzbudzone atomy tlenu indukują sieciowanie włókien kolagenowych rogówki. Dzięki tej procedurze rogówka odzyskuje część wytrzymałości mechanicznej.

Technika zabiegu została wystandardyzowana. Zabieg rozpoczyna się od usunięcia nabłonka rogówki, następnie przez 30 minut z przerwami 1–5-minutowymi aplikowane są krople 0,1% ryboflawiny. Oznaką pełnej saturacji rogówki jest obecność ryboflawiny w komorze przedniej, którą sprawdza się w lampie szczelinowej z użyciem filtra kobaltowego. Przez kolejne 30 minut rogówka jest naświetlana promieniami UVA (365–370 nm, 3 mW/cm²), jednocześnie nadal aplikuje się ryboflawinę. Zabieg kończy się założeniem opatrunkowej soczewki kontaktowej, utrzymywanej do zakończenia procesu nabłonkowania rogówki. Po zabiegu zaleca się użycie kropli antybiotykowych oraz preparatu dekspantenol w żelu. Po wynabłonkowaniu łoża rogówki przez około 3 tygodnie stosuje się krople steroidowe w zmniejszanych dawkach.

Obecnie wskazania do zabiegu cross-linking rozszerzają się wraz z pojawiającymi się nowymi dowodami na działanie tego zabiegu w przebiegu schorzeń innych niż stożek rogówki. Zwrodnienie brzeżne przezroczyste, będące inną formą ektazji rogówki, może także być skutecznie leczone CXL (1-2). Takimi wskazaniami są ektazje rogówki po zabiegach refrakcyjnych, a celem zabiegu CXL jest zahamowanie progresji choroby podobnie jak w stożku rogówki. Kolejne zastosowanie obejmuje zabiegi łączone CXL z zabiegami fotokratektomii refrakcyjnej (PRK) opartej na topografii rogówki, szczególnie w przypadkach topografii rogówki wskazującej na ukrytą formę stożka

rogówki (forme fruste keratoconus). Ciekawe wydaje się także zastosowanie CXL w leczeniu wspomagającym zapaleń i wrzodów rogówki (3) oraz obrzęku rogówki w przebiegu keratopatii pęcherzowej (4–8). Możliwości zastosowania CXL w leczeniu schorzeń innych niż stożek przedstawiono poniżej, a summarycznie w tabeli I.

CXL w leczeniu zapaleń i owrzodzeń rogówki

Owrzodzenie rogówki, w przebiegu którego dochodzi do zniszczenia struktury istoty właściwej wskutek proteolitycznego działania enzymów (m.in. metaloproteinaz) na włókna kolagenu, jest ciężką i zagrażającą widzeniu chorobą oka. Leczenie tego schorzenia obejmuje początkowo miejscową oraz ogólną antybiotykoterapię o szerokim zasięgu oddziaływania, a następnie – w przypadku wyhodowania drobnoustroju (uzyskania dodatnich posiewów) – antybiotykoterapię celowaną. Niestety, w wielu przypadkach pomimo podejmowania wysiłków i ponoszenia znacznych kosztów z powodu długiego leczenia nie udaje się zatrzymać progresji choroby.

Przesłanką do zastosowania CXL w leczeniu owrzodzeń rogówki jest zwiększenie jej odporności na trawiące działanie enzymów bakteryjnych oraz tkankowych. Osiąga się to poprzez wytworzenie dodatkowych wiązań krzyżowych między włóknami kolagenu, które wzmacniają strukturę rogówki. Ponadto znane są już od lat właściwości przeciwbakteryjne promieniowania ultrafioletowego oraz samej ryboflawiny. Promieniowanie ultrafioletowe wykazuje właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe oraz niszczy formy przetrwalnikowe. W medycynie używane jest do dezynfekcji wody oraz powietrza i powierzchni laboratoryjnych. Z kolei ryboflawina ma zdolność inaktywacji RNA bakteryjnego po jej wzbudzeniu światłem ultrafioletowym. Jest to tzw. reakcja fotodynamiczna, którą stosuje się m.in. do sterylizacji krwi i produktów krwiopochodnych w komercyjnie dostępnym systemie Mirasol PRT firmy CaridianBCT (16–18).

Po raz pierwszy zastosowanie CXL w leczeniu infekcyjnych zapaleń rogówki przebiegających z rozmiękaniem rogówki opisali Iseli i wsp. w 2008 roku (19). Badanie zostało przeprowadzone na grupie liczącej pięcioro chorych, u których zapalenie nie odpowiadało na ogólną i miejscową terapię, a okres obserwacji wyniósł od 1 do 9 miesięcy. We wszystkich przypadkach uzyskano zahamowanie rozmiękania rogówki. Pozwoliło to odłożyć decyzję o „przeszczepie na ratunek”.

Skuteczność CXL na podstawie opisu przypadku pacjentki z zapaleniem rogówki wywołanym przez *Escherichia coli* podają także autorzy z Włoch (20). W tym opornym na leczenie owrzodzeniu rogówki poprawa nastąpiła już 1 dzień po zastosowaniu CXL, natomiast pełne wygojenie owrzodzenia i ustąpienie objawów obserwowano po miesiącu. Al-Sabai i wsp. (21) opisali przypadek gwałtownie postępującego owrzodzenia rogówki wywołanego przez *Pseudomonas aeruginosa*, w którym zabieg CXL zahamował rozmiękanie rogówki i spowodował wytworzenie blizny, dzięki temu pacjent uniknął „przeszczepu na gorąco” („keratoplasty à chaud”).

Nieco większą grupę chorych, u których zastosowano CXL w nieogojącym się owrzodzeniu rogówki, zaprezentowali Ehlers i wsp. (22). Poddali oni zabiegowi 14 oczu – w 6 oczach uzyskano całkowite wyleczenie w ciągu dwóch tygodni, w 3 oczach obserwowano częściową poprawę, w 5 oczach zaś za-

Możliwe zastosowania sieciowania włókien kolagenowych w chorobach rogówki/ Possible application of corneal collagen cross-linking in corneal diseases

Stożek rogówki/ Keratoconus (9)
Zwrodnienie brzeżne przezroczyste/ Pellucid marginal degeneration (1–2)
Ektazje rogówki po zabiegach refrakcyjnych/ Post laser in situ keratomileusis ectasia (10–11)
Zabiegi cross linking łączone z zabiegami refrakcyjnymi/ Cross-linking combined with refractive procedures (12)
Keratopatia pęcherzowa/ Bullous keratopathy (4–8, 13)
Zapalenia i owrzodzenia rogówki/ Keratitis and corneal ulcers (3, 14)
Zapobieganie reakcjom odrzutu przeszczepu/ Prevention of graft rejection (15)

Tab. I. Możliwe zastosowania sieciowania włókien kolagenowych w chorobach rogówki.

Tab. I. Possible application of corneal collagen cross-linking in corneal diseases.

bieg nie wpłynął na stan rogówki. Skuteczność CXL w leczeniu owróżnienia rogówki w przebiegu keratopatii pęcherzowej u dwóch pacjentów opisali także Kozobolis i wsp. (23). Autorzy ci obserwowali poprawę w zakresie objawów klinicznych już w pierwszej dobie po zabiegu, natomiast poprawę ostrości wzroku w 2-miesięcznym okresie obserwacji. Z kolei autorzy ze Szwecji opisali efekty zastosowania CXL w przebiegu krótkotrwałej (objawy do 7 dni) infekcji rogówki (24). W badaniu tym uzyskano poprawę we wszystkich leczonych oczach, przy czym w większości następowała ona już w pierwszych 24 godzinach po zabiegu. Dodatkowo w dwojgu oczach z poziomem ropy w komorze przedniej zanotowano jego całkowite ustąpienie w ciągu 2 dni.

Powyżej przytoczone wyniki, chociaż uzyskane w badaniach na niewielkich grupach chorych, wydają się obiecujące i są wstępem do przeprowadzenia badań na większej populacji. Dotychczas otwarte pozostaje pytanie, którzy pacjenci mogą odnieść korzyści z zastosowania CXL. Z nielicznych doniesień wynika, że są to głównie pacjenci z zapaleniami o etiologii bakteryjnej i grzybiczej. W modelu *in vitro* potwierdzono skuteczność kombinacji ryboflawiny i promieniowania UVA w eradykacji szczepów bakteryjnych *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* oraz metycylinoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA) (14). Z badań na zwierzętach wynika, że CXL może być także skutecznym zabiegiem wspomagającym leczenie zapaleń rogówki o etiologii grzybiczej, np. *Fusarium* (3). Jedyne dostępne badanie *in vitro* sprawdzające skuteczność CXL wobec *Acanthamoeba* wykazało, że zabieg nie hamuje wzrostu tego patogenu (25). Wymaga to jednak dalszych badań, gdyż nie zawsze wyniki *in vitro* mają bezpośrednie przełożenie na działanie w warunkach *in vivo*.

CXL w leczeniu obrzęku rogówki

CXL zmniejsza grubość rogówki (26). Zjawisko to, zaobserwowane w czasie leczenia stożków rogówki jako efekt uboczny, wykorzystano w leczeniu keratopatii pęcherzowej. CXL poprzez wzmocnienie połączeń między włóknami kolagenu redukuje potencjalną przestrzeń, w której gromadzi się płyn międzykomórkowy (8). Zabieg sieciowania włókien kolagenu nie jest w tej sytuacji leczeniem przyczynowym, gdyż powodem obrzęku jest tutaj dysfunkcja komórek śródbłonka. Jednak wskutek zagęszczenia istoty właściwej obrzęk ulega zmniejszeniu. Doprowadza to do poprawy funkcji optycznej rogówki. Zabieg taki może mieć zastosowanie w sytuacji, kiedy wykonanie przeszczepu rogówki nie jest możliwe lub kiedy przeszczep trzeba odłożyć.

Zastosowanie CXL w leczeniu keratopatii pęcherzowej z powodu pseudofakii, odrzutu śródbłonkowego przeszczepu oraz dystrofii śródbłonkowej Fuchsa opisali Wollensak i wsp. (13). W 8-miesięcznym okresie obserwacji autorzy uzyskali zmniejszenie grubości rogówki średnio o 93 μm . Ponadto u leczonych przez nich pacjentów uzyskano zmniejszenie dolegliwości bólowych oraz poprawę ostrości wzroku.

Krueger i wsp. (8) oceniali wpływ CXL na grubość obrzękniętej rogówki, podając ryboflawinę śródrogówkowo. Zastosowali w tym celu laser femtosekundowy, dzięki któremu wytworzyli 2 kieszenie w rogówce na różnej głębokości, do których wstrzyknęli lek. Efektem terapii było zmniejszenie grubości rogówki o średnio 256 μm , kiedy wskutek użycia samego la-

sera femtosekundowego efektem było zmniejszenie jedynie o 100 μm .

CXL w leczeniu ektazji rogówki innych niż stożek

Stożek rogówki, schorzenie najczęściej poddawane zabiegowi CXL, jest rozstrzeniową dystrofią rogówki, której efektem jest ektazja rogówki. Zabieg CXL można również zastosować w leczeniu innych schorzeń, które cechują się powstaniem ektazji, takich jak zwyrodnienie brzężne przezroczyste czy jatrogenne ektazje po chirurgii refrakcyjnej.

W przypadku zwyrodnienia brzężnego przezroczystego ścieńczenie dotyczy obwodowej rogówki w niewielkiej odległości od rąbka. Osiągnięcie efektu stabilizacji rogówki zatem jest najbardziej pożądane na obszarze obwodowym. Jednak z powodu blisko umiejscowionego rąbka rogówki istnieje obawa o to, czy zabieg jest całkowicie bezpieczny dla komórek macierzystych rąbka, które są potencjalnie narażone na cytotoksyczne działanie wolnych rodników wzbudzonych w wyniku naświetlania promieniowaniem UVA. Przeprowadzając zabieg, należy o tym pamiętać i wykonywać naświetlanie z zachowaniem co najmniej 1 mm strefy ochronnej przy rąbku lub użyć narzędzia, które na czas naświetlania zasłoni rąbki rogówki.

Dotychczasowe doniesienia, chociaż są nieliczne i opisyją krótkie okresy obserwacji, nieprzekraczające 12 miesięcy, wskazują na skuteczność zabiegu CXL w leczeniu zwyrodnienia brzężnego przezroczystego. Niektórzy autorzy opisują także zachęcające wyniki jednoczasowych łączonych zabiegów PRK z CXL, dzięki którym w przebiegu tego schorzenia możliwa jest poprawa ostrości wzroku uzyskana poprzez zmniejszenie astygmatyzmu (1, 27). Dalsze badania pokażą, czy takie postępowanie uzyska szerszą akceptację.

Kolejnym ze schorzeń, w którym stosuje się CXL, jest ektazja po zabiegu laser *in situ* keratomileusis (LASIK). To rzadkie, ale zagrażające widzeniu powikłanie przebiega podobnie jak szybko postępujący stożek rogówki i może doprowadzić do przeszczepu rogówki. Ryzyko jego powstania zwiększają takie czynniki jak: nierozpoznany stożek rogówki, ukryta forma stożka rogówki (forme fruste keratoconus), mała grubość pozostałej istoty właściwej z powodu dużej ablacji laserowej lub zbyt grubego płata oraz wysoka krótkowzroczność (28). Obserwacje sugerują, że wykonanie CXL w przypadku wystąpienia ektazji po zabiegu LASIK prowadzi do zahamowania postępu choroby i pozwala uniknąć ciężkich powikłań (29-30). Wydaje się, że w tych przypadkach wyniki są podobne do tych, które uzyskano po zabiegach CXL z powodu stożka rogówki (24).

Kontrowersje natomiast budzą zabiegi łączone CXL i PRK u pacjentów ze stożkiem rogówki. Ablacja laserowa z jednej strony modeluje rogówkę, aby przywrócić jej prawidłowy kształt, ale z drugiej strony ścieńczenie rogówki zwiększa ryzyko gwałtownej progresji stożka. Wykonanie dodatkowo CXL w trakcie zabiegu PRK ma na celu zapobieżenie powstaniu tego powikłania (12). Podobnie jest w przypadku stosowania zabiegów łączonych w leczeniu ukrytej postaci stożka rogówki (forme fruste keratoconus) lub w przypadku bardzo cienkich rogówek, które są istotnymi czynnikami rozwoju ektazji po zabiegach refrakcyjnych. Takie podejście nie uwzględnia ewentualnych zmian w biomechanice rogówki, które wywołuje CXL, a które mogą wpływać na efekt refrakcyjny zabiegu PRK. Głębokość

laserowej ablacji zależy od wartości korygowanej wady i jest kluczowym elementem planowania zabiegu. Wiadomo jednak, że CXL zmienia grubość rogówki, istnieje zatem taka możliwość, że wykonanie CXL po zabiegu laserowej ablacji może prowadzić do słabo przewidywalnych efektów refrakcyjnych.

Podsumowanie

W ostatnich latach zabieg sieciowania włókien kolagenowych został powszechnie zaakceptowany i jest stosowany w zapobieganiu progresji stożka rogówki na jego wczesnych etapach. Pacjenci, u których występują inne ektazie rogówki, w tym jatrogenne, także odnoszą korzyści z tej metody leczenia. Skojarzenie CXL z zabiegami refrakcyjnymi jest istotną pokusą, ponieważ wydaje się, że połączenie obydwu metod wpłynęłoby na zwiększenie liczebności populacji tych pacjentów, którzy mogliby odnieść korzyść z zabiegu chirurgii refrakcyjnej rogówki. Warunkiem jest jednak wystarczająca liczba przekonywujących dowodów, że połączenie zabiegu CXL z zabiegiem refrakcyjnym jest bezpieczne. Dla tych pacjentów dodatkową korzyścią byłaby możliwość uniknięcia keratoplastyki lub przynajmniej jej odłożenia – keratoplastyka jest zabiegiem bardziej obciążającym niż inne, a rehabilitacja wzrokowa po niej jest dłuższa.

Częstą przyczyną niepowodzenia w leczeniu infekcyjnych zapaleń rogówki jest narastająca oporność bakteryjna na miejscowo stosowane antybiotyki, a także słaba skuteczność miejscowych środków, które prowadzą do szybkiego niszczenia struktury rogówki. Poszukiwanie zatem nowych metod leczenia może przynieść wymierne korzyści terapeutyczne i zapobiec wystąpieniu powikłań. Z uwagi na przeciwbakteryjne oraz umacniające strukturę kolagenu właściwości promieniowania ultrafioletowego w połączeniu z działaniem wzbudzonej ryboflawiny zastosowanie tej metody w leczeniu owrzodzeń rogówki może wykazywać skuteczność. Wymaga to jednak potwierdzenia w zakrojonych na szerszą skalę, kontrolowanych badaniach klinicznych.

W przypadku keratopatii pęcherzowej leczeniem przyczynowym są przeszczepy rogówki – warstwowy tylny lub drążący. W szczególnych jednak przypadkach, jeśli u pacjenta nie można wykonać przeszczepu lub trzeba go odłożyć, CXL może mieć zastosowanie jako metoda zmniejszająca grubość rogówki i nasilenie dolegliwości bólowych oraz poprawiająca ostrość wzroku. Z kolei w chirurgii transplantacyjnej rogówki postuluje się zastosowanie CXL jako metody zmniejszającej ryzyko odrzutu poprzez zmniejszenie liczby komórek prezentujących antygeny (15).

W trakcie realizacji znajduje się wiele nowych badań nad zastosowaniem CXL w leczeniu chorób oka – wydaje się, że wstępne wyniki są obiecujące. W najbliższych latach okaże się, które z potencjalnych zastosowań oraz jakie modyfikacje protokołów leczenia z zastosowaniem CXL wejdą do praktyki klinicznej.

Piśmiennictwo:

1. Kymionis G.D., Grentzelos M.A., Portaliou D.M., Karavitaki A.E., Krasia M.S., Dranidis G.K. i wsp.: *Photorefractive keratectomy followed by same-day corneal collagen crosslinking after intrastromal corneal ring segment implantation for pellucid marginal degeneration*. J. Cataract. Refract. Surg. 2010; 36: 1783–1785.
2. Spadea L.: *Corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation in pellucid marginal degeneration*. J. Refract. Surg. 2010; 26: 375–377.

3. Galperin G., Berra M., Tau J., Boscaro G., Zarate J., Berra A.: *Treatment of Fungal Keratitis From Fusarium Infection by Corneal Cross-Linking*. Cornea 2012; 31(2): 176–180.
4. Bottos K.M., Hofling-Lima A.L., Barbosa M.C., Barbosa J.B. Jr., Dreyfuss J.L., Schor P. i wsp.: *Effect of collagen cross-linking in stromal fibril organization in edematous human corneas*. Cornea 2010; 29, 789–793.
5. Cordeiro Barbosa M.M., Barbosa J.B. Jr., Hirai F.E., Hofling-Lima A.L.: *Effect of cross-linking on corneal thickness in patients with corneal edema*. Cornea 2010; 29: 613–617.
6. Hafezi F., Dejica P., Majo F.: *Modified corneal collagen crosslinking reduces corneal edema and diurnal visual fluctuations in Fuchs dystrophy*. Br. J. Ophthalmol. 2010; 94: 660–661.
7. Hayes S., Kamma-Lorger C.S.: *Corneal collagen cross-linking in bullous keratopathy*. J. Refract. Surg. 2009; 25: 687; author reply -8.
8. Krueger R.R., Ramos-Esteban J.C., Kanellopoulos A.J.: *Staged intrastromal delivery of riboflavin with UVA cross-linking in advanced bullous keratopathy: laboratory investigation and first clinical case*. J. Refract. Surg. 2008; 24: 730–736.
9. Goldich Y., Marcovich A.L., Barkana Y., Avni I., Zadok D.: *Safety of corneal collagen cross-linking with UV-A and riboflavin in progressive keratoconus*. Cornea 2010; 29: 409–411.
10. Kanellopoulos A.J., Binder P.S.: *Management of corneal ectasia after LASIK with combined, same-day, topography-guided partial transepithelial PRK and collagen cross-linking: the athens protocol*. J. Refract. Surg. 2011; 27: 323–331.
11. Salgado J.P., Khoramnia R., Lohmann C.P., Winkler von Mohrenfels C.: *Corneal collagen crosslinking in post-LASIK keratectasia*. Br. J. Ophthalmol. 2011; 95: 493–497.
12. Krueger R.R., Kanellopoulos A.J.: *Stability of simultaneous topography-guided photorefractive keratectomy and riboflavin/UVA cross-linking for progressive keratoconus: case reports*. J. Refract. Surg. 2010; 26: 827–832.
13. Wollensak G., Aurich H., Wirbelauer C., Pham D.T.: *Potential Use of Riboflavin/UVA Cross-Linking in Bullous Keratopathy*. Ophthalmic. Res. 2009; 41(2): 114–117.
14. Schrier A., Greebel G., Attia H., Trokel S., Smith E.F.: *In vitro antimicrobial efficacy of riboflavin and ultraviolet light on Staphylococcus aureus, methicillin-resistant Staphylococcus aureus, and Pseudomonas aeruginosa*. J. Refract. Surg. 2009; 25: 799–802.
15. Wang F.: *UVA/riboflavin-induced apoptosis in mouse cornea*. Ophthalmologica 2008; 222: 369–372.
16. Goodrich R.P., Doane S., Reddy H.L.: *Design and development of a method for the reduction of infectious pathogen load and inactivation of white blood cells in whole blood products*. Biologicals 2010; 38: 20–30.
17. Goodrich R.P., Gilmour D., Hovenga N., Keil S.D.: *A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns*. Transfusion 2009; 49: 1205–1216.
18. Heaselgrave W., Kilvington S.: *Antimicrobial activity of simulated solar disinfection against bacterial, fungal, and protozoan pathogens and its enhancement by riboflavin*. Appl. Environ. Microbiol. 2010; 76: 6010–6012.
19. Iseli H.P., Thiel M.A., Hafezi F., Kampmeier J., Seiler T.: *Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts*. Cornea 2008; 27: 590–594.

20. Micelli Ferrari T., Leozappa M., Lorusso M., Epifani E., Micelli Ferrari L.: *Escherichia coli keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking: a case report*. Eur. J. Ophthalmol. 2009; 19: 295–297.
21. Al-Sabai N., Koppen C., Tassignon M.J.: *UVA/riboflavin crosslinking as treatment for corneal melting*. Bull. Soc. Belge Ophtalmol. 2010; 315:13–17.
22. Ehlers N., Hjortdal J., Nielsen K., Sondergaard A.: *Riboflavin-UVA treatment in the management of edema and nonhealing ulcers of the cornea*. J. Refract. Surg. 2009; 25: 803–806.
23. Kozobolis V., Labiris G., Gkika M., Sideroudi H., Kaloghianni E., Papadopoulou D. i wsp.: *UV-A Collagen Cross-Linking Treatment of Bullous Keratopathy Combined With Corneal Ulcer*. Cornea 2010; 29: 235–238.
24. Makdoui K., Mortensen J., Crafoord S.: *Infectious keratitis treated with corneal crosslinking*. Cornea 2010; 29: 1353–1358.
25. Del Buey M.A., Cristobal J.A., Casas P., Goni P., Clavel A., Minguez E. i wsp.: *Evaluation of In Vitro Efficacy of Combined Riboflavin and Ultraviolet A for Acanthamoeba Isolates*. Am. J. Ophthalmol. 2012; 153(3): 399–404.
26. Holopainen J.M., Krootila K.: *Transient corneal thinning in eyes undergoing corneal cross-linking*. Am. J. Ophthalmol. 2011; 152: 533–536.
27. Stojanovic A., Zhang J., Chen X., Nitter T.A., Chen S., Wang Q.: *Topography-guided transepithelial surface ablation followed by corneal collagen cross-linking performed in a single combined procedure for the treatment of keratoconus and pellucid marginal degeneration*. J. Refract. Surg. 2010; 26: 145–152.
28. Randleman J.B.: *Post-laser in-situ keratomileusis ectasia: current understanding and future directions*. Curr. Opin. Ophthalmol. 2006; 17: 406–412.
29. Greenstein S.A., Fry K.L., Hersh P.S.: *In Vivo Biomechanical Changes After Corneal Collagen Cross-linking for Keratoconus and Corneal Ectasia: 1-Year Analysis of a Randomized, Controlled, Clinical Trial*. Cornea 2012;31(1): 21–25.
30. Greenstein S.A., Fry K.L., Hersh P.S.: *Corneal topography indices after corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: one-year results*. J. Cataract. Refract. Surg. 2011; 37: 1282–1290.

Praca wpłynęła do Redakcji 10.04.2012 r. (1369)
Zakwalifikowano do druku 02.10.2012 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr hab. n. med. Ewa Mrukwa-Kominek
SPSK nr 5 ŚUM w Katowicach
ul. Ceglana 35
40-952 Katowice
e-mail: mrukwa@okulistyka.katowice.pl