

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

KATEDRA OPTIKY

ENDOTEL ROHOVKY

Bakalářská práce

VYPRACOVALA:

Kateřina Robenková

Obor 5345R008 OPTOMETRIE

Studijní rok 2020/2021

VEDOUCÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE:

Mgr. Lenka Musilová, DiS., Ph.D.

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Lenky Musilové, DiS., Ph.D. za použití literatury uvedené v závěru práce.

V Olomouci dne 9. 5. 2021

.....

Kateřina Robenková

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své bakalářské práce Mgr. Lenky Musilové, DiS., Ph.D., za vstřícný přístup, cenné rady a čas, který mi při psaní mé práce poskytla. Taktéž bych chtěla poděkovat MUDr. Miroslavě Maluškové za vstřícnost, ochotu a odborný dohled při psaní práce.

OBSAH

ÚVOD	5
1 ROHOVKA	6
1.1 Anatomie a histologie rohovky	6
1.2 Výživa a inervace rohovky	9
1.3 Onemocnění rohovky	11
1.3.1 Klinické známky rohovkových onemocnění	11
1.3.2 Degenerativní onemocnění	11
1.3.3 Dystrofie	12
1.3.4 Ektázie	13
1.3.5 Infekční choroby rohovky	14
1.3.6 Neinfekční choroby rohovky	16
1.3.7 Nádory	17
1.4 Vyšetření rohovky	17
2 ENDOTEL ROHOVKY	20
2.1 Embryologie endotelu	20
2.2 Anatomie a histologie endotelu	20
2.3 Fyziologie endotelu	22
2.4 Patologie endotelu rohovky	23
2.4.1 Kongenitální vady endotelu	24
2.4.2 Dystrofie endotelu rohovky	25
2.4.3 Degenerativní onemocnění endotelu a endoteliopatie	29
2.5 Vyšetření endotelu	31
3 ENDOTELOVÁ CHIRURGIE A JEJÍ NEJNOVĚJŠÍ TRENDY	34
3.1 Endoteliální keratoplastika (EK)	34
3.1.1 Descemetova stripovací automatizovaná endoteliální keratoplastika (DSAEK)	36
3.1.2 Endoteliální keratoplastika Descemetovy membrány (DMEK)	38
3.1.3 Hluboká přední lamelová keratoplastika (DALK)	39
3.2 Nové trendy v endotelové terapii	39
3.2.1 Přechod od chirurgie rohovky v plné tloušťce k lamelární keratoplastice	39

3.2.2	Použití magnetických nanočástic pro regeneraci endotelu.....	41
3.2.3	Použití kmenových buněk pro regeneraci endotelu.....	42
4	ZÁVĚR	43
5	CITACE POUŽITÝCH ZDROJŮ	44

ÚVOD

Rohovka se na celkové dioptrické hodnotě oka podílí ze všech prvků optické soustavy nejvíce, zhruba 43 D z celkových 60 D. Tato bakalářská práce se zabývá jednou z pěti částí rohovky, endotelem rohovky. O endotelu rohovky se literatura příliš nezmiňuje, zabývá se o rohovku spíše jako o celek, ale endotel je pro správnou funkci rohovky velmi důležitý. Jeho hlavní funkce hydratace, udržována pomocí sodno-draselného čerpadla, a transparentnost, uspořádáním lamelových vláken, jsou nezbytnou součástí správného procesu vidění a průhlednosti rohovky.

Práce je rozdělena do tří hlavních kapitol. První část obsahuje obecné informace o rohovce, je stručně popsána anatomie, histologie, fyziologie a vybrány příklady patologií. Uvedeny jsou také možnosti vyšetření. Mezi nejznámější a nejčastější techniky vyšetření rohovky patří rohovková topografie, díky které získáváme nejpodrobnější přehled o povrchu rohovky. Hlavní problematika je popsána ve druhé a třetí kapitole. Druhá kapitola je věnována samotnému endotelu, jeho anatomii, fyziologii, patologii a možnostem vyšetření. Mezi časté patologie endotelu patří Fuchsova dystrofie a tzv. endoteliopatie, což jsou onemocnění, která vznikají působením vnějších vlivů na endotel. Na tuto problematiku navazuje třetí kapitola, kde jsou rozebrány jednotlivé trendy v oční chirurgii, které se zaměřují právě na endotel a řešení jeho patologií. Kapitola se zabývá především problematikou nejnovějších terapeutických postupů. Je zmíněno několik studií, které se zabývaly právě vývojem chirurgie endotelu rohovky. Mezi nejčastější zákroky u patologií endotelu řadíme Descemetovu stripovací automatickou endoteliální keratoplastiku (DSAEK, Descemet stripping automated endothelial keratoplasty) a endoteliální keratoplastiku Descemetovy membrány (DMEK, Descemet membrane endothelial keratoplasty). DSAEK se provádí u komplikovanějších případů a při zákroku je odstraněn endotel, Descemetova membrána a část zadního stromatu u příjemce a jsou nahrazeny dárcovskou tkání. U DMEK se odstraňuje a nahrazuje pouze endotel a Descemetova membrána. Léčba endotelových buněk je předmětem současných výzkumů, které se zaměřují např. na použití magnetických nanočástic a kmenových buněk.

1 ROHOVKA

1.1 Anatomie a histologie rohovky

Rohovka (Cornea) je vnější, průhledná, zcela bezbarvá a avaskulární struktura bohatě zásobená smyslovými nervovými zakončeními, je velmi citlivá na dotek a bolest. Slouží jako mechanická a chemická ochrana mezi vnitřním a vnějším prostředím oka. Její hlavní úlohou je umožnit průchod světla do vnitřních prostorů oka. Je to v podstatě vstupní okno do prostor oka. Z optického hlediska je rohovka nejdůležitějším prostředím. Rozhraní mezi rohovkovým slzným filmem a okolní atmosférou poskytuje zhruba dvě třetiny refrakční síly lidského oka, což je zhruba čtyřicet tři dioptrií. Je pokryta slzným filmem a v okolí limbu hraničí se sklérou. Její tloušťka je 540 až 700 μm tlustá (na periferii 1 mm) a pokrývá jednu šestinu celkového obvodu oka, na rozdíl od skléry, která tvoří pět šestin. Rohovka má větší poloměr zakřivení než skléra a její kolagenové lamely mají pravidelnou strukturu. Mezi lamelami jsou ploché buňky nazývány keratocyty (modifikované fibroblasty).

Rohovka se začíná vyvíjet kolem pátého týdne těhotenství a postupně se vytváří všech 5 vrstev. Zhruba ve 3. a 4. měsíci těhotenství je rozpoznatelná Descemetova membrána pomocí světelné mikroskopie. Do pátého měsíce jsou pak dotvořena nervová zakončení v epitelu a během 5. a 7. měsíce těhotenství se rohovka stává průhlednou. Skládá se z pěti základních vrstev: Epiteliální vrstva, Bowmanova membrána, Stroma, Descemetova membrána a Endotel (viz obr. 1). [1, 2, 3, 4, 6]

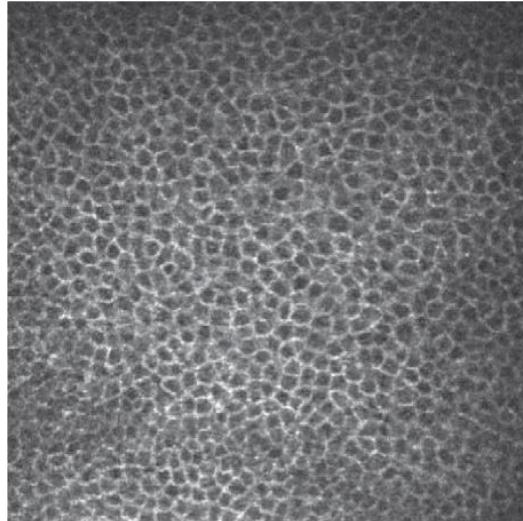


Obr. 1 – Vrstvy rohovky, upraveno [39]

Epitel je přední vrstva lidské rohovky. Je nekeratinizovaný, stratifikovaný a dlaždicový, jeho tloušťka je přibližně 50 μm a skládá se z pěti až šesti vrstev buněk. Tvoří zhruba 10 % tloušťky rohovky. Epitel je držen četnými kotevními spoji nazývanými desmozomy. Je tvořen bazální vrstvou, která je složená ze dvou odlišných vrstev. První je přední silnější lamina lucida 20–30 nm a druhá, zadní a tlustší, je lamina densa 30–60 nm. [4]

Buňky bazální vrstvy jsou schopné buněčného dělení. Nové buňky putují postupně vertikálně na povrch rohovky a nahrazují odumřelé buňky epitelu, které se odlučují z povrchu rohovky a jsou následně odplaveny slzným filmem. Bazální buněčná vrstva ukládá velké glykogenové granule, které představují zdroj energie během regenerační fáze. Díky obrovské schopnosti regenerace nemá epitel tendenci se jizvit (na rozdíl od stromatu). Cytoplazma všech epitelových buněk obsahuje hlavně cytoskeletální intermediární vlákna a má řídké cytoplazmatické organely. To vše pomáhá při zachování transparentnosti. Převládajícím cytoplazmatickým proteinem je keratin. Povrch epitelu je krytý asi 7 μm silnou vrstvou složenou z glykoproteinů a lipidů. Mikroklky usnadňují přilnavost mucinové vrstvy k povrchu rohovky. Mucinová vrstva má schopnost tvořit hydrofilní povrch rohovky (tedy dobře interagující s vodnou složkou slzného filmu).

Má dvě hlavní funkce. Bariérová funkce chrání oční povrch před mechanickým poškozením a rohovku před vniknutím infekčních agens do vnitřních částí oka. Druhá funkce je pokrytí slzným filmem, který chrání oční povrch před dehydratací, odstraňuje nerovnosti rohovky, pomáhá zásobovat rohovku kyslíkem a živiny, má antibakteriální charakter, slouží jako ochranný systém a umožňuje smýt z povrchu rohovky odumřelé buňky a jiné škodlivé látky. Epitel se obnovuje přibližně každých sedm dní odloučením buněk vnějšího povrchu do slzného filmu. To je podmíněno třením, které na něm vzniká, když oko mrká každých 7 sekund. [2, 4, 5]



Obr. 2 – Epitel rohovky [20]

Bowmanova membrána je nebuněčná membrána o tloušťce zhruba 8-12 μm a je umístěna mezi bazální vrstvou epitelu a stromatem. Je produkována stromálními keratocyty a složena z extracelulárního matrixu, proteoglykanů a kolagenů. Bowmanovou vrstvou pronikají nervové axony, které jsou nemyelinizované. Hlavní úlohou je ochrana stromatu před zraněním a oddělením od epitelu. Degenerace kolagenu s věkem způsobuje její ztenčování. Bowmanova membrána není schopna regenerace. Při poškození se hojí jizvou. [3]

Stroma je nejsilnější vrstva rohovky tvoří asi 90 % její tloušťky. Převážně se skládá z vody, kterou stabilizuje a udržuje pohromadě organizovaná strukturní síť nerozpustných a rozpustných buněčných extracelulárních proteinů. [2]

Skládá se především z extracelulárního matrixu (kolagen a proteoglykan), kde se až z 15 % nachází také keratocyty, což jsou modifikované vazivové buňky (fibrocyty). Keratocyty jsou jednou z hlavních složek v lidské rohovce a jsou ve stromatu rozloženy, jejich hustota se mění s polohou, největší hustota je v přední části stromatu, dosahuje až $42\,500/\text{mm}^3$ a klesá směrem k zadní části stromatu, kde je hustota $24\,000/\text{mm}^3$. [3]

Jednou ze složek extracelulárního matrixu je kolagen, bílkovina nerozpustná ve vodě, tvoří 71 % suché hmotnosti rohovky a ve stromatu je řazený do podoby lešení, které tvoří základní struktury pojivových tkání. Z molekul kolagenu se tvoří kolagenové fibrily. Fibrily jsou uspořádány do lamel. Kolagenová vlákna a filamenty drží rohovku pohromadě. Průhlednost rohovky je zajištěna pravidelným paralelním uspořádáním kolagenických vláken. Další složkou matrixu jsou proteoglykany, ve vodě rozpustné

glykoproteiny. Hlavním úkolem proteoglykanů je zajištění prostorového uspořádání kolagenových vláken, objem tkáně a odolávání tlakovým silám. Tyto tři složky (kolageny, proteoglykany a keratocyty) spolu s konstantním obsahem vody udržují tvar a stabilitu rohovky, která je odolná vůči vnějšímu prostředí. [2, 3]

Descemetova membrána se nachází mezi stromatem a bazální vrstvou endotelu. Vyloučený extracelulární matrix z endotelu je ukládán podél bazálního povrchu endotelu a je nazýván jako Descemetova membrána. Matrix je vylučován v průběhu celého života a Descemetova membrána vzniká podobně jako letokruhy na stromech. Je velmi elastická a silná, protože se primárně skládá z kolagenu, který je uspořádán do jednotlivých vláken. Nemá žádné spojovací body nebo schopnosti přilnout k zadnímu stromatu, pouze pomocí fibronektinu, což je látka glykoproteinové povahy, a jednou z jeho funkcí je adheze. [2, 4]

Přední pruhovaná vrstva, 4–6 μm tlustá, se tvoří ještě během vývoje plodu. Zadní vrstva, 6–11 μm tlustá, je tvořena během celého života. Na konci života je Descemetova membrána tlustá asi 10–15 μm . Descemetova membrána má na rozdíl od Bowmanovy membrány dobrou regeneraci [2, 3, 5]

Endotel je nejzadnější vrstva rohovky. Podílí se na hydrataci a transparentnosti rohovky. Více je popsán v kapitole 2. Endotel rohovky. [5]

1.2 Výživa a inervace rohovky

Rohovka je avaskulární tkáň, patří do skupiny tkání, které jsou bez cévního zásobení (bradytrofické tkáně), do této skupiny patří také např. sklivec nebo čočka.

Rohovkový metabolismus je pomalý, je ovlivněn vnější teplotou, průměrná teplota rohovky se odhaduje na zhruba 34,8 °C. Lymfatické a krevní cévy končí v limbu. Metabolity (aminokyseliny a glukóza) a kyslík se do rohovky dostávají pomocí tří cest. První je difuze z kapilár limbu. Difuzí z komorové vody se do rohovky dostane hlavně glukóza a většina kyslíku se do rohovky dostává difuzí ze slzného filmu. Menší množství kyslíku pak z limbálního oběhu a komorové vody. [1, 3]

Rohovka je z velké části tvořena vodou. Stálá hydratace rohovky tedy zajišťuje stabilní refrakční index. Hlavní podíl na stabilním prostředí v rohovce má Na^+/K^+ pumpa. [4]

Rohovka je inervována z první větve V. hlavového nervu (n. ophthalmicus n. trigemini). Jedná se o povrchovou tkáň s nejhustší sítí nervových vláken, již má 300x-600x větší citlivost ve srovnání s kůží. Při přímém podráždění vyvolává mrkací reflex. Při narušení epitelu rohovky vznikne intenzivní bolest, následuje slzení a neovladatelné sevření víček tzv. blefarospasmus. Narušení epitelu může způsobit vnější mechanické, tepelné i chemické podráždění nebo vystavení silnému UV záření. [1, 2]

Nervové zakončení v rohovce začne vznikat kolem 5. měsíce těhotenství. Vytváří se nervový svazek kolem limbu, který postupně prostupuje do rohovky. Jedná se o vlákna vycházející z n. nasociliaris, který je součástí první větve (n. ophthalmicus) V. hlavového nervu (n. trigemini). [3, 4]

Inervace rohovky, především epitel rohovky a přední třetina stromatu vzniká z dlouhých ciliárních nervů, které pronikají sklérou kolem sklerálního kanálu a začínají se větvit v nejvzdálenějších vrstvách cévnatky, jak procházejí pod ora serrata. Existují dva plexy nervových vláken – stromální a subepiteliální.

Hlavní nervové kmeny jsou myelinizovány. Při průchodu nervových vláken do stromatu ztrácí myelinovou pochvu. Ve stromatu vytváří nervová vlákna složitou hustou síť a některá z nich zasahují k epitelu rohovky. Další nervová pletěň se vyskytuje subepiteliálně. Vlákna této pletěň procházejí epitelem k povrchovým vrstvám buněk. Kromě světelné mikroskopie jsou rohovkové nervy detekovatelné štěrbinovou lampou, konfokální mikroskopií i imunohistochemicky. [2, 3]

Tabulka 1 – Základní parametry rohovky [1]

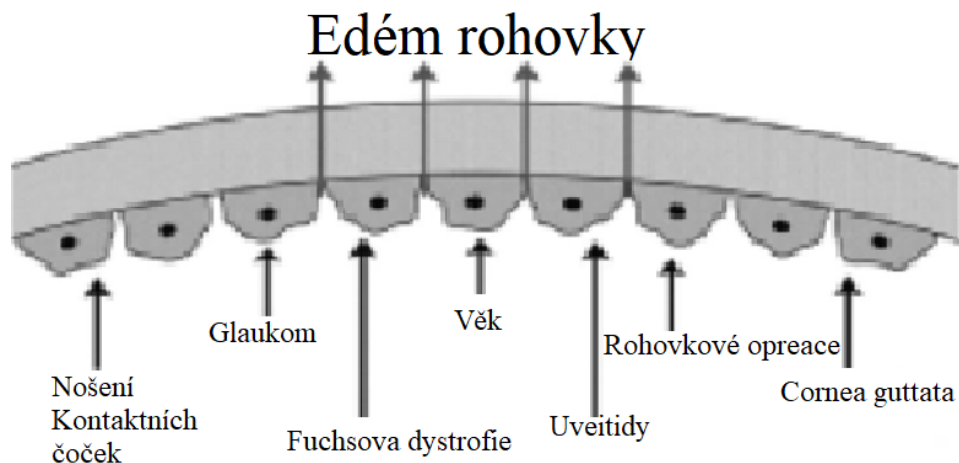
Průměr rohovky vertikálně	11,5 mm
Průměr rohovky horizontálně	12,6 mm
Optická mohutnost	43 D
Tloušťka centrální rohovky	560 μm
Tloušťka periferní rohovky	650–1000 μm
Hustota endotelových buněk	2600 buněk/ mm^2
Hydratace rohovky	76-80 %

1.3 Onemocnění rohovky

Patologie rohovky dělíme do několika skupin.

1.3.1 Klinické známky rohovkových onemocnění

Klinické známky rohovkových onemocnění dělíme do několika skupin. První skupinou jsou povrchové známky, kde řadíme např. tečkovité defekty (drobné, epiteliální eroze), filamenta (shluk vysráženého mucinu), edém rohovky (viz obr. 3). Druhou skupinou jsou stromální známky, kde řadíme například infiltráty (nashromážděné leukocyty) a patologické vaskularizace (vznik nových cév ve tkáni). Do třetí skupiny, defekty Descemetovy membrány, můžeme zařadit například foldy (vznikají při hypotonii) nebo defekty vznikající při keratokonu. Do poslední skupiny, endotelové defekty, řadíme například guttaty. [1, 8]



Obr. 3 – Faktory způsobující edém rohovky, upraveno [21]

1.3.2 Degenerativní onemocnění

Zonulární keratopatie (Keratopathia zonularis) se projevuje jako ukládání depozit vápenatých solí temporálně a nasálně při limbu rohovky, postupně se rozšiřují směrem k centru, až vzniká pruh na úrovni interpalpebrální štěrbině s negativním dopadem na zrakovou ostrost. Vyskytuje se u lidí s hyperkalcémií, s chronickými záněty nebo juvenilní idiopatickou artritidou. Dále se vyskytuje u pacientů po četných chirurgických očních zákrocích.

Gerontoxon

Centrální rohovkové degenerace [1, 7]

1.3.3 Dystrofie

Rohovkové dystrofie jsou onemocnění dědičná a vrozená, bez známek zánětu a systémových projevů s různým stupněm progresivity. U některých případů, například u Fuchsovy endotelové dystrofie (viz kapitola 2.4.2), hrají roli také faktory prostředí. Jsou jednou z nejčastějších příčin primární transplantace rohovky.

Epitelové dystrofie

Coganova dystrofie postihuje bazální membránu epitelu. Je to nejčastější druh rohovkové dystrofie, postihuje až 2% populace a vyskytuje se v centrální zóně rohovky. Podstatou tohoto onemocnění je snížená adheze epitelu k bazální membráně. Projevuje se nerovností epitelu v centru rohovky a recidivujícími erozemi. Biomikroskopicky si všímáme bělavých opacit ve tvaru map a teček. Léčba probíhá pomocí lubrikačních gelů nebo terapeutické kontaktní čočky.

Meesmannova dystrofie [1, 5, 7]

Dystrofie Bowmanovy membrány

Reisova-Bucklersova dystrofie je autozomálně dominantní, postihuje centrální oblast rohovky. Ukládání kolagenu na úrovni Bowmanovy membrány ji postupně nahrazuje. Stroma a endotel bývají bez postižení. Klinickým obrazem onemocnění jsou šedobělavé geografické opacity povrchových vrstev rohovky vyskytující se zejména v její centrální části. Symptomy jsou provázené recidivujícími erozemi s postupným snížením centrální zrakové ostrosti. V období vzniku erozí se léčí lubrikanty, fototerapeutickou keratektomií v iniciálních fázích onemocnění. V pozdějších fázích keratoplastikou. Recidiva onemocnění je častá. [1]

Thielova-Behnkeho dystrofie

Graysonova-Wilbrandtova dystrofie

Stromální dystrofie

Granulární dystrofie je autozomálně dominantně dědičná. Vytváří se bělošedé opacity (zakalení) v předním stromatu rohovky, které zpočátku neovlivňují zrakovou ostrost. Opacity se rozšiřují z centrální části do periferní. Léčba není nutná, pouze pokud by došlo k poškození zrakové ostrosti. Kontaktní čočky, fototerapeutická keratektomie a keratoplastika mohou vidění obnovit.

Makulární dystrofie

Mřížková dystrofie [1, 5, 7]

Endotelové dystrofie

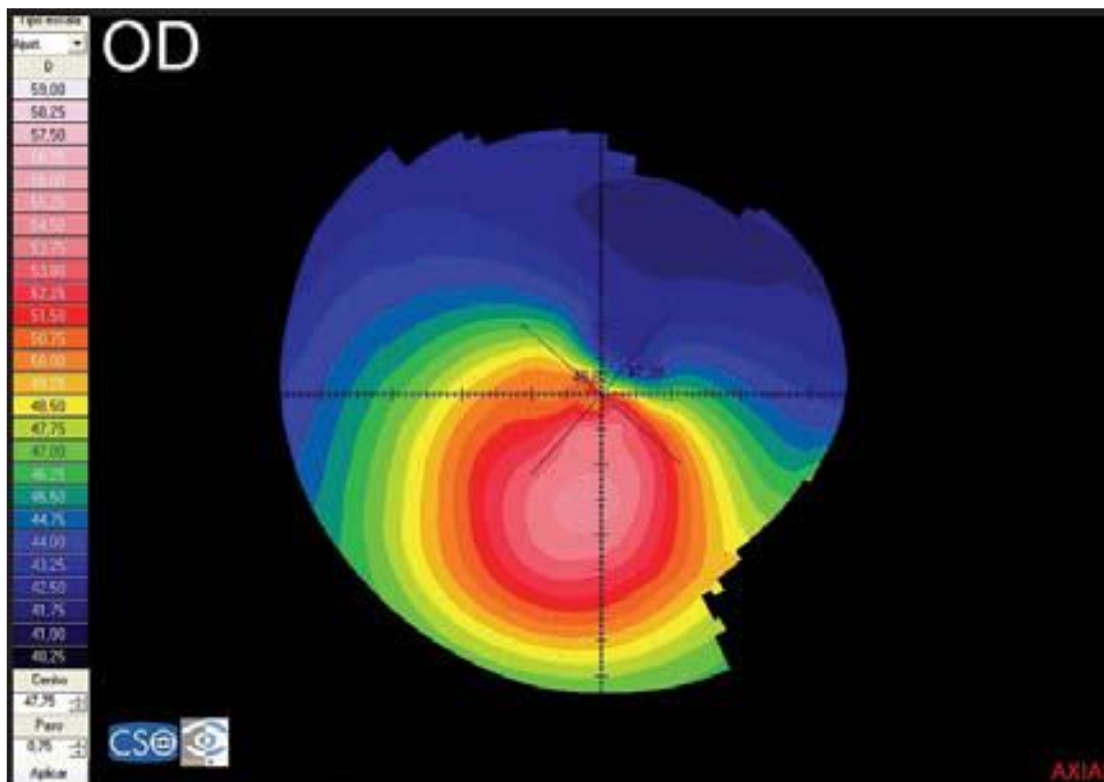
(viz kapitola 2.4.2)

1.3.4 Ektázie

Jedná se o ztenčování a vyklenování rohovky, kdy kolagen rohovky je nekvalitní. Prvním projevem bývá asymetrický pokles vidění s nárůstem myopie a nepravidelného astigmatismu. V dětském věku dochází k rychlé progresi onemocnění, v dospělém věku naopak k pomalé. Nejčastějším typem je keratokonus.

Keratokonius je oboustranné onemocnění rohovky, při kterém dochází k vyklenování a ztenčování rohovky, obvykle v centru rohovky nebo paracentrálně (viz obr. 4). Rohovka je ztenčená a kónicky vyklenutá. Projevuje se nárůstem myopie nebo nepravidelného astigmatismu, protože klesá zraková ostrost. Obvykle se manifestuje v období puberty. Může být asociován s Downovým syndromem. Příčiny vzniku jsou multifaktoriální. Ke korekci jsou doporučeny měkké nebo tvrdé kontaktní čočky, později perforující keratoplastika (poslední terapeutická volba). Mezi příznaky patří dráždění bulbu se slzením a s asymetrickým poklesem vízu. Diagnostikovat se dá pomocí topografie tzv. keratometrie, která také zhodnocuje progresi onemocnění. Mezi nové metody léčby patří aplikace intrastromálních prstenců (ICRS), které umožňují zlepšení zrakové ostrosti a stabilizaci keratokoniu. Další metodou je fotodynamická terapie (CCL), kdy je pro léčbu využíváno UV záření o vlnové délce 365nm. Je použito v kombinaci s riboflavinem, který podporuje buněčné zesíťování. [1,5,6,7]

Keratoglobus je vrozená anomálie zakřivení rohovky, kdy je rohovka plošně ztenčená a difúzně vyklenutá. Představuje závalu v syntéze kolagenu. Je to bilaterálně symetrický neprogresivní stav. Léčba spočívá v korekci refrakční vady, keratoplastika je indikována jen ve výjimečných případech. [1, 5]



Obr. 4 – Rohovková topografie u keratokonu [5]

1.3.5 Infekční choroby rohovky

Infekční keratitidy jsou jedny z hlavních příčin slepoty ve světě, vznikají také v civilizovaných zemích. Mezi predisponující faktory k rozvoji infekční keratitidy patří používání kontaktních čoček (zejména přes noc), dlouhodobé nošení kontaktní čočky, nedostatečné dezinfekční roztoky, trauma, oční chirurgie (např. operace rohovky), chronické onemocnění povrchu oka, systémové onemocnění jako diabetes mellitus nebo rozšířené užívání lokálních kortikosteroidů. Rohovka má několik ochranných mechanismů, které mají za úkol zachytit mikroby a zabránit vzniku infekce. Patogeny způsobující infekci jsou nejčastěji viry, bakterie, akantaméby a plísňe. [1, 5, 7]

Virové keratitidy

Herpes simplex virová keratitida je způsobená virem herpes simplex (HSV) je jednou z nejčastějších infekcí rohovky ve vyspělých zemích. [9]

Dva identifikované kmeny jsou HSV-1 a HSV-2. První z nich ovlivňuje horní část těla, většinou ústa, rty a oči. Druhý napadá v podstatě genitální oblast. Infekce je poměrně častý jev, 50–90 % populace může trpět oparem během života.

Průběh primární infekce oka je subklinický, objevuje se jako vezikuly na kůži. Po primární infekci přejde virus do latentního stadia a usídí se v gangliu. [1, 5]

Subjektivně je vnímána bolest, v úvodní fázi se na rohovce objeví tečkovité defekty, které se vyvíjejí ve větvicí léze (podoba větviček). V tomto období dochází až k anestezii rohovky. [11]

Rekurentní infekce je recidiva onemocnění. Obvykle je to reakce na stres nebo sníženou imunitu. Opakující se onemocnění způsobuje snížení citlivosti rohovky. [1, 5]

Diagnostika spočívá v laboratorní DNA diagnostice jednotlivých typů pomocí PCR metody, izolací viru na buněčné kultuře nebo fluorescenčním vyšetřením. Terapie je lokální nebo systémová, lokálně se vyplachuje spojivkový vak 10% roztokem betadinu, celkově se pak podává aciklovir. [1]

Herpes zoster virová keratitida je způsobena herpetickým virem varicella zoster. Virus zůstává nečinný po infekci planých neštovic v mladém věku a aktivuje se v pozdější fázi, kdy způsobí herpes zoster ophthalmicus (HZO). Prvotní stadium jsou bolesti hlavy, malátnost a horečka s následným výsevem puchýřů v kožní oblasti, kterou senzitivně inervuje trojklaný nerv. [1, 5, 6]

Hutchinsonovo znamení (výsev puchýřků na špičce nosu) může znamenat vyšší riziko postižení oka. Léčba je stejná jako u infekce způsobené herpes simplex viru. [1, 17]

Bakteriální keratitidy

Rohovka je chráněná před infekcí reflexem mrkání, bariérou víček, slzným filmem a adhezí slz k oku. Pokud je nějaký z těchto faktorů ovlivněný, například traumatem způsobeným úrazem oka, poruchou slzného filmu, jiným rohovkovým onemocněním a dalším, je pravděpodobný výskyt infekce. [12]

Bakteriální keratitidy může způsobit celá řada bakterií, mezi nejčastější patogeny řadíme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Enterobacter*.

Klinický obraz závisí na charakteru bakteriální flory, době trvání infekce a množství vniknutých patogenů. Postupně dochází k destrukci lamel rohovky, se vznikem defektu až vředu rohovky, a zánětlivé reakci (ve spojivkovém vaku se vyskytuje hlenohnisavá sekrece). Vzniká zánětlivý exsudát v přední komoře – hypopyon. Příznakem je bolest, fotofobie, červené oko a pokles zrakové ostrosti. Diagnostika, kterou provádíme pomocí odběru infekčního materiálu (scrapingu) ke

kultivačnímu vyšetření, je významná pro zavedení přesné léčby. Léčba probíhá antibiotiky nebo v krajních případech keratoplastikou. [1, 5, 7, 10, 12]

Plísňové keratitidy

Akantamébová keratitida je vzácná, avšak zrak ohrožující rohovková infekce způsobená patogenem náležejícím k rodu *Acanthamoeba* (viz obr. 5). Vyvolává krutou bolest oka, zarudnutí oka a světloplachost po dobu několika týdnů. Za nepříznivých podmínek přežívá v podobě cysty. Aktivní formou je trofozoit. Hlavní rizikové faktory pro *Acanthamoeba keratitis* jsou opotřebení kontaktních čoček, trauma rohovky, zanedbaná péče o kontaktní čočky, plavání při nošení kontaktních čoček. Keratitida je provázena blefarospasmem, edémem víček a bolestí. Bez léčby může onemocnění vyústit do nekrotizující keratitidy. Léčba je dlouhodobá, ústup zánětu někdy trvá až 18 měsíců, poté se obvykle ještě pokračuje v léčbě po dobu 6-8 týdnů. [1, 10, 17]

Nejlépe prokazatelná je z roztoku, ve kterém byly uchovány kontaktní čočky. [12]



Zdravé oko

Infikované oko

Obr. 5 – Akantamébová keratitida, upraveno [41]

1.3.6 Neinfekční choroby rohovky

Méně časté keratitidy, které vznikají například na podkladě imunopatologického procesu, traumatu, při degenerativních změnách, poruše slzného filmu, nedokonalé funkci očních víček.

Keratoconjunctivitis sicca patří mezi nejčastější onemocnění rohovky, stává se takzvaně civilizační chorobou. Jde o poruchu některé ze složek slzného filmu. [1, 11]

Expoziční keratopatie je onemocnění rohovky, kdy je rohovka obnažena a nedochází k její hydrataci. Je náchylná k tvorbě defektů a jejímu ztenčování. Komplikací při dlouhotrvající expoziční keratopatii je perforace rohovky – lagofthalmus.

Další příčina může nastat po operaci ptózy, kdy víčka přesně nedovírají. Nedostatečná hydratace rohovky vede k osychání buněk epitelu a postupnému vzniku defektu na rohovce. [11, 12]

Keratopatie způsobená UV zářením, u které pozorujeme drobné tečkovité defekty rohovky. Jsou způsobeny špatnou ochranou při svařování nebo pobytem na vysokohorském slunci bez brýlí. [11]

Keratomalacie nastává z nedostatku vitamínu A. [1]

1.3.7 Nádory

Nádory, které se vyskytují primárně na rohovce, jsou vzácné. Mnohem častěji se vyskytují nádory sekundární, které přerůstají na rohovku z okolních tkání (například ze spojivky nebo limbu), protože jsou buněčně mnohem pestřejší. [1, 11]

1.4 Vyšetření rohovky

Rohovka je fyziologicky čirá, při patologických změnách mění svoji průhlednost, stejně tak tloušťku. Prvním krokem je anamnéza. Zjišťujeme, zda pacient netrpí alergiemi, infekčním onemocněním, cukrovkou nebo dalšími onemocněními, které mohou ovlivňovat rohovku. Zda utrpěl nějaký oční úraz nebo se léčí s nějakým očním onemocněním. Druhý způsob, kdy můžeme zjistit anomálii je zevní pohled. Pozorujeme změny v okolí oka a víčka. Transparentnost rohovky je zjistitelná odrazovou metodou (zrcadlí se okno na rohovce je souměrné). Vyšetření předního očního segmentu umožňuje štěrbinová lampa. Vyšetřujeme nejprve při malém zvětšení, posuzujeme, zda je rohovka hladká, lesklá a transparentní. Můžeme hodnotit také tloušťku, defekty epitelu, které se dobře barví fluoresceinem či bengálskou červení, a zakalení. Dále hodnotíme endotel (viz kapitola 2.5.1) a celkový stav přední komory například při rohovkových vředech (vylučujeme přítomnost hypopyon) nebo keratitidách (může být přítomna uveitida).

Zobrazovací metody předního segmentu oka

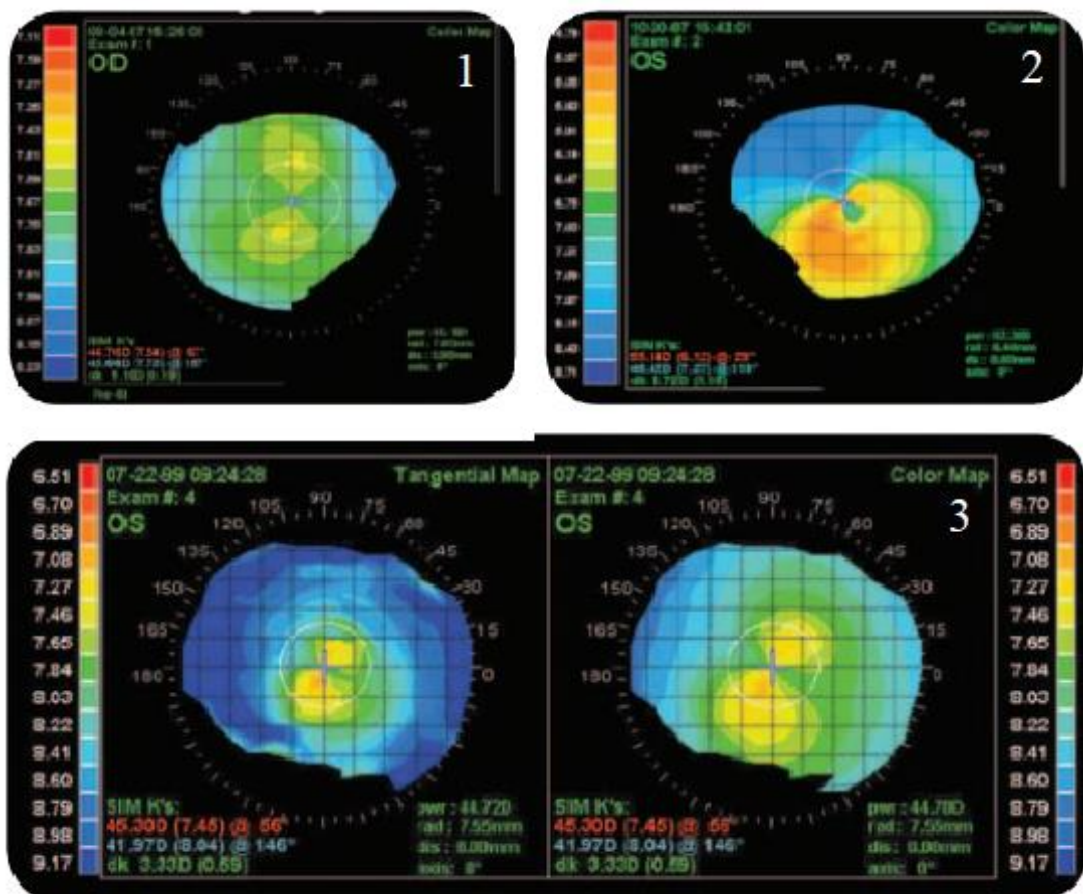
Do zobrazovacích metod předního segmentu patří rohovková topografie, do které řadíme tyto tři metody:

Keratometrie je bezkontaktní vyšetření, kdy pacient musí po celou dobu držet víčka pořádně otevřená, aby povrch rohovky nebyl zkreslený, a fixuje značku. Měří se

nejstrmější a nejplošší meridián rohovky. Existují dva typy použití, první je mechanický a druhý automatický.

Keratoskopie je metoda, která využívá promítání černých a bílých proužků na sítnici, a vyhodnocuje jejich pravidelnosti tzv. Placidovy kroužky. Pokud se kruhy jeví nějak deformované, může to naznačit přítomnost astigmatismu. Měření probíhá podobně jako u keratometrie, pacient musí fixovat značku a mít oko pořádně otevřené.

Rohovková počítačová topografie je přesné zpracování keratoskopických obrazů, umožňuje přesně lokalizovat rohovkový astigmatismus, pravidelný i nepravidelný, nebo rohovkové ektatické onemocnění (viz kapitola 1.3.4). Výsledky jsou zaznamenány do barevné 2D nebo 3D mapy, která znázorňuje nejstrmější a nejplošší meridián a zakřivení v různých optických zónách. Obraz je obvykle barevně kódován, červená značí strmé oblasti, modrá ploché a žlutozelená v normálu (viz obr. 6).



Obr. 6 – Topografie rohovky 1. Topografická mapa běžné zdravé rohovky 2. Topografická mapa pacienta s keratokonem 3. Rohovková topografie pacienta s vysokým astigmatismem. Upraveno [18]

Speciální vyšetřovací metody

Pachymetrie slouží k vyšetření tloušťky rohovky. Přesné změření rohovky se provádí v rámci předoperačního vyšetření v refrakční chirurgii nebo napomáhá správné interpretaci hodnoty nitroočního tlaku, pro správnou diagnostiku glaukomu. Existují dvě metody: Optická pachymetrie (využívá koherentní polarizované světlo) a ultrazvuková pachymetrie (využívá mechanické vlnění vysokofrekvenčního ultrazvuku). [1, 11, 13, 18]

Esteziometrie je vyšetření pro zjištění rohovkové citlivosti. Nejrozšířenější je orientační metoda testování vláknem vatového smotku.

Exoftalmometrie udává vzdálenost vrcholu rohovky od orbitálního okraje v zevním koutku oka. Měření probíhá pomocí zrcátkového systému a milimetrové škály. Používá se zejména k sledování axiálního exoftalmu, u jakékoliv patologické masy v očnici (pseudotumor nebo lymfom očnice), a nádorových onemocnění očnice (rozdíl mezi oběma očima do 2 mm je fyziologický). [13]

2 ENDOTEL ROHOVKY

Zadní plocha rohovky, důležitá pro udržení transparentnosti a hydratace rohovky.

2.1 Embryologie endotelu

K vývoji endotelu dochází kolem čtvrtého týdne nitroděložního embryonálního vývoje. Vznikají progenitorové buňky endotelu z nervového hřebenu za účasti mezenchymálních buněk mezodermy. První „vlna“ mezenchymálních buněk, která prochází optickým kalíškem, migruje dostředivě v prostoru mezi přední povrch čočky a povrchový ektoderm za vzniku endotelu rohovky, což se děje kolem přibližně 33 dne. Při druhé vlně mezenchymálních buněk vzniká stroma rohovky.

Kolem pátého měsíce se endotel, který byl až dosud dvojitá vrstva, jeví jako jednoduchý kvádr, a nakonec se vyvíjí jednoduchá dlaždicová vrstva spočívající na tlusté bazální vrstvě – předchůdce Descemetovy membrány. Pro vývoj endotelu je důležitá přítomnost široké škály transkripčních faktorů.

2.2 Anatomie a histologie endotelu

Endotel je jednovrstevná plástev tvořena přibližně 400 000 neurálních, šestihranných buněk. Průměrná velikost endotelových buněk je asi 20 μm o tloušťce 5-6 μm na vnitřní ploše rohovky. Buňky leží na zadním povrchu rohovky a tvoří nepravidelné polygonální nebo hexagonální pole nebo mozaiku, kterou lze jasně viditelně pozorovat in vivo pomocí zrcadlové mikroskopie a konfokální mikroskopie. Navazují na sebe s 20 nm širokými mezibuněčnými prostory mezi sebou.

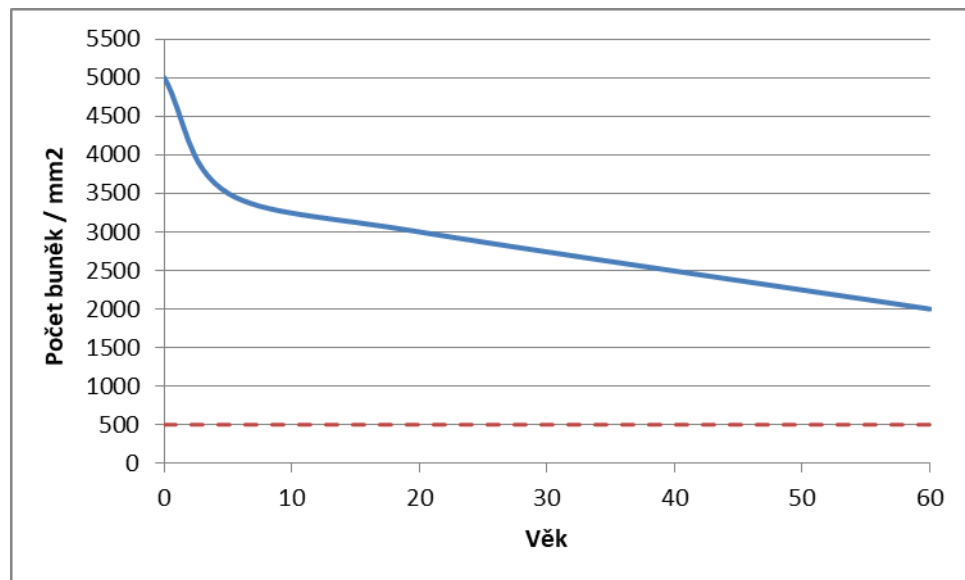
Při narození je hustota centrálních endoteliálních buněk rohovky kolem 5 000 buněk / mm^2 , ale protože endotel rohovky má velmi malé regenerační schopnosti, je zcela zjevné, že s věkem hustota endoteliálních buněk klesá. Rozlišujeme pomalou a rychlou složku životního cyklu endotelových buněk. Během rychlé složky centrální hustota endoteliálních buněk klesá exponenciálně z přibližně 3 500 buněk / mm^2 ve věku pěti let, na 3 000 buněk / mm^2 do věku dvaceti let. Poté nastává pomalá složka, mezi 20 a 60 lety, kde hustota centrálních endoteliálních buněk klesá ustálenou rychlostí, což vede k počtu buněk kolem 2 000 buněk / mm^2 u člověka staršího šedesáti let (viz graf 1). Nejen ubývání buněk s věkem může zapříčinit snížení počtu endotelových buněk, ale i další faktory jako systémové onemocnění, nitrooční operace

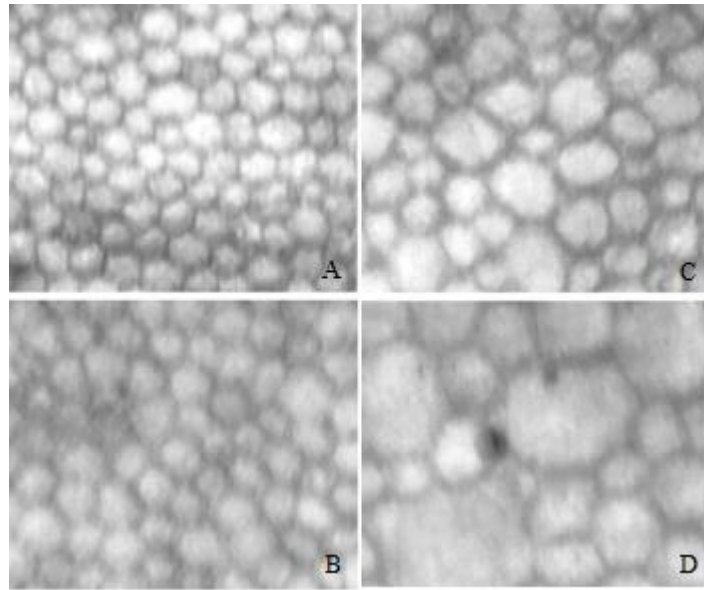
nebo transplantace rohovky, časté nošení kontaktních čoček a refrakční chirurgie. [1, 2, 3, 4, 5, 20]

Tato míra oděru, v průměru 0,6 % ročně po celý život, je kompenzována endoteliální hypertrofií, zvětšením buněk a dostředivou migrací buněk z krajní hranice sousedící s limbem. [37]

Když hustota klesne pod prahovou hodnotu 500 buněk / mm², ať už stárnutím, endoteliálním traumatem nebo onemocněním, dojde k endoteliální dekompenzaci, protože pasivní prosakování již nelze kompenzovat samotným zvětšením buněk. To má za následek nevratný edém rohovky a zákal ve vizuální ose. [40]

Graf 1 – Ubývání počtu endotelových buněk s věkem stanovený podle zdrojů [2, 4]





Obr. 7 – Zobrazení různé hustoty endoteliálních buněk (přibližně A) 1000, B) 2000, C) 3000, D) 4000 buněk / mm²) pomocí zrcadlové mikroskopie. Upraveno [3]

2.3 Fyziologie endotelu

Transparentnost a hydratace rohovky

Hlavní funkcí endotelu je transparentnost a konstantní hydratace rohovky. Hydratace je udržována pomocí sodno-draselného čerpadla (Na⁺ / K⁺ -ATPáza) umístěného v endotelu. Transparentnost rohovky je zajištěna pravidelným lamelovým uspořádáním kolagenových vláken. Endotelové buňky rohovky mají četné cytoplazmatické organely, zejména mitochondrie, a proto mají vysoký aerobní metabolický účinek. Endotel rohovky zprostředkovává roli bariéry a prostřednictvím metabolické pumpy udržuje průhlednost rohovky. Kontakt mezi sousedními endotelovými buňkami není tak okluzivní [uzavřený] jako v epitelu a buněčné spoje jsou netěsné, což umožňuje průchod tekutiny. Porucha funkce endotelové pumpy se klinicky projeví při poklesu hustoty buněk pod 500/ mm².

Při snížení nebo přerušení funkce endoteliální pumpy stroma rohovky bobtná, nedokáže odčerpat vodu, hydratovat rohovku, vyvíjí se stromální edém a rohovka ztrácí průhlednost, což má za následek případnou ztrátu zrakové ostrosti. [3, 4, 5]

Naopak při snížení hydratace, která klesne i pod méně než 5 % se tloušťka rohovky nemění. Neovlivňuje lom světelných paprsků, průhlednost a její mechanické funkce. Je známo mnoho faktorů, které mění funkci endoteliální pumpy například farmakologické inhibice Na⁺ / K⁺ -ATPázy, snížení teploty, nedostatek

hydrogenuhličitanu a snížení endotelových buněk z mechanického poranění, chemického poranění nebo chorobné stavy. Většina kyslíku se dostává do rohovky ze vzduchu pomocí slzného filmu, dále vrstvami rohovky až k endotelu. Malé množství kyslíku se dostává do rohovky z limbálního oběhu a z komorové vody. Narušení přívodu kyslíku do rohovky může vést k hypoxii a stromálnímu otoku. Během spánku, když jsou víčka zavřená, je dodávání kyslíku do rohovky výrazně sníženo a tím se metabolismus rohovky přesouvá z aerobního na anaerobní. Z vnitřní strany omývá endotel rohovky komorová voda, kterou vylučuje řasnaté tělísko. Funkce komorové vody je přivádět živiny, vodu a další metabolity, které procházejí do stromatu, a odstraňovat metabolické odpady. [2] Přispívá k udržování nitroočního tlaku a tím udržování konvexního tvaru rohovky. Je tedy zodpovědná za udržování optických vlastností oka.[4]

Vytvoření Descemetovy membrány

Další funkcí endotelu je syntéza bazální membrány podél jeho bazálního povrchu, která se nazývá Descemetova membrána. Je ukládána po celý život, ukládání můžeme nazvat jako letokruhy u stromu. [2] Místo spojovacích bodů drží pomocí vrstvy fibronektinu. Na elektronové mikroskopii je Descemetova membrána uspořádána do mnoha široce rozmístěných pruhovaných kolagenových fibril. [4]

Iontová rovnováha

V endotelu bylo charakterizováno několik typů iontových kanálů, například kanály K^+ , neselektivní kationtový kanál, velký vodivý aniontový kanál a další. Tyto kanály mají za úkol udržovat iontovou rovnováhu v buňce. [2]

2.4 Patologie endotelu rohovky

Onemocnění endotelu rohovky můžeme rozdělit na primární a sekundární. Primární zasahují přímo endotel, sekundární pak ovlivňují endotel následkem jiného onemocnění. Pro lepší orientaci onemocnění a vad endotelu je přesnější rozdělení na kongenitální, dystrofie, degenerativní a endoteliopatie.

2.4.1 Kongenitální vady endotelu

Vrozené anomálie rohovky se mohou objevit následkem poruchy vývoje, tedy abnormální diferenciací mezenchymálních buněk. Bývají bez progresu a někdy jsou doprovázeny dalšími systémovými abnormalitami. [5, 12]

Mezi endotelové kongenitální vady řadíme Petersovu anomálii a zadní keratokonus.

Petersova anomálie zahrnuje nepřítomnost centrálního rohovkového endotelu, Descemetovy membrány a defektem zadního stromatu rohovky. Ve většině případů také chybí Bowmanova membrána. Petersova anomálie může být způsobena přerušným vývojem rohovkového endoteliálního mezodermu, porušeným vývojem keratocytů a endoteliálního nervového hřebenu mezodermu nebo sekundární endoteliální degenerací. [14]

Existují dva typy Petersovy anomálie. První typ se jeví centrální adhezí duhovky k zadní ploše rohovky. Nejsou běžné další oční nebo celkové anomálie. U druhého typu je přítomna katarakta a čočka adhezuje k rohovce. Vyskytují se i další oční postižení jako mikroftalmus, sklerokornea, buphthalmus (viz obr. 8) nebo kardiální postižení. Glaukom doprovází Petersovu anomálii ve více než polovině případů. [12]

Léčba probíhá hlavně u amblyopie a glaukomu. Glaukom léčíme lokální terapií, případně chirurgicky. Perforující keratoplastika je indikována až v krajních případech. [1]



Obr. 8 – Petersův syndrom komplikovaný buphthalmusem [14]

Zadní keratokonus (Keratoconus posterior), který je zpravidla ohraničená anomálie, se projevuje jako deprese centrálních nebo paracentrálních zadních obrysů rohovky. Mechanismus vzniku není znám, ale může se jednat o mírnou formu Petersovy anomálie. Toto onemocnění je ojedinělé, jednostranné, nezánettivé, relativně centrálně v rohovce. Neexistuje žádný vztah s předním keratokonem.

Existují dva typy zadního keratokonu, generalizovaný a ohraničený. Generalizovaný typ vzniká, když je zadní rohovkové zakřivení vyšší než přední. Ohraničený se projevuje výskytem lokalizovaných kráterů v centrální nebo paracentrální rohovce. Vidění není ovlivněno, s výjimkou extrémních případů, kdy je sekundárně změněno zakřivení přední rohovky. Systémové vady, které se mohou objevit společně s tímto onemocněním, jsou například střední rozštěp obličeje a závažné močopohlavní abnormality v urogenitálním traktu, což značí, že k zadnímu keratokonu dochází již na začátku gestačního období. V oblasti defektů můžeme histopatologicky pozorovat narušenou Descemetovu membránu, která v některých případech chybí, a endotel. [1, 12, 14] Léčba není nutná, ve výjimečných případech je indikována perforující keratoplastika, pokud vada ovlivňuje zrakovou ostrost. [1]

2.4.2 Dystrofie endotelu rohovky

Rohovkové dystrofie jsou vzácná onemocnění, která se projevují bez známek zánětů či dalších systémových onemocnění a v různé míře ovlivňují zrakovou ostrost. Bývají oboustranné, většinou geneticky podmíněné (u Fuchsovy dystrofie hrají roli faktory prostředí) a s různým stupněm progresivity. [1, 12, 15]

Kongenitální hereditární endotelová dystrofie je bilaterální, symetrická a je vzácná. Onemocnění je charakterizováno oboustranným difúzním edémem rohovky. U novorozenců se vyznačuje ztluštěním rohovky granulárního vzhledu, má variabilní klinický obraz – od šedobělavých opacit až po její úplné zkalení. Histopatologicky chybí na zadním povrchu rohovky endotel. Dochází ke snížení zrakové ostrosti až pod vízus 0,1.

Rozlišujeme dva typy: autozomálně dominantní a autozomálně recesivní. Typ 1, autozomálně dominantní, se projevuje během prvních dvou let života fotofobií a slzením. Progreduje pomalu, není zde nystagmus a zraková ostrost je v porovnání s autozomálně recesivním typem dědičnosti méně snížena. U typu 2, autozomálně recesivního, se jedinci rodí s rohovkami, které mají difúzní vzhled broušeného skla a je

přítomen nystagmus a amblyopie. Centrální zraková ostrost je výrazně horší v porovnání s dominantním typem dědičnosti. [15]

Nejúčinnější a jedinou možnou léčbou je perforující keratoplastika, která se provádí v časně fázi, při pozdním provedení zákroku hrozí riziko amblyopie. [1, 12]

Fuchsova dystrofie rohovky je oboustranné postižení, stranově asymetrické, s pomalu progredujícím edémem rohovky. Pozorujeme jej kolem 50. roku věku. Výskyt je sporadický, postihuje častěji ženy, ale dědičnost není jednoznačně stanovena. [1, 12]

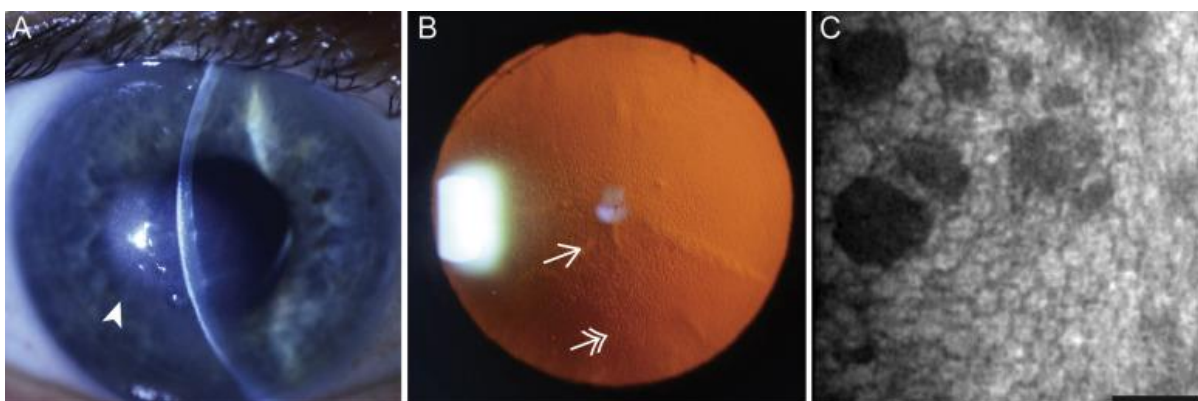
Charakteristickými klinickými nálezy jsou výchlípky na Descemetově membráně, které při svém rozvoji narušují endotelové spoje, generalizovaný edém rohovky a snížená zraková ostrost. Zpočátku je Fuchsova dystrofie rohovky asymptomatická. V centrální části rohovky se tvoří rohovkové guty, což jsou kapkovité útvary prominující do přední komory. Vytvořené guty mají při pozorování na šterbinové lampě zlatohnědý nádech. [15, 24]. Postupně dochází k jejich šíření do periferie, až vytváří obraz tepaného kovu. Klinický obraz popisujeme ve čtyřech fázích, které se vyvíjejí po dobu 20 až 30 let:

1. Cornea guttata – V centrální rohovkové zóně se na endotelu vyskytují výchlípky Descemetovy membrány, zbylé endotelové buňky vykazují pleomorfismus a polymegatismus. Epitel zůstává bez patologie a stroma bez edému. Šíří se od centra k periferii a tuto fázi považujeme spíše za degeneraci (viz kapitola 2.4.3).
2. Stromální edém bez edému epitelu – Tato fáze je charakterizována snížením zrakové ostrosti a dalších problémů. Vzniká edém stromatu. Při výrazném ztenčení stromatu nastává také edém epitelu. Pacient vidí nepříjemné kruhové efekty kolem světla a také zažívá rozmazané vidění a oslnění. Na šterbinové lampě pozorujeme zvrásnění Descemetovy membrány, takzvané strie. [1, 24]
3. Stromální edém s edémem epitelu – Fáze označována jako bulózní keratopatie se vyznačuje jako edém rohovky, sekundárně vedoucí k selhání endoteliální pumpy, provázen fotofobií a bolestivostí. Výrazně klesá zraková ostrost. [1, 16] Edém rohovky je obvykle nejvýraznější v centrální a paracentrální rohovce a překrývá endotel rohovky. Zpočátku je edém rohovkového epitelu omezen na bazální vrstvu epitelu, ale v pokročilejších případech jsou také

zahrnutý povrchové vrstvy a epitel se oddělí od své bazální laminy. Bowmanova vrstva obvykle zůstává neporušená [15]

4. Subepitelová fibróza – Zmírnění bolestí pacienta, ale výrazný pokles zrakové ostrosti. Je snížena rohovková citlivost, vyskytují se časté komplikace jako eroze, rohovkové vředy, kalcifikace a vaskularizace rohovky (tvoří se tzv. vaskulární panus, který nahrazuje Bowmanovu membránu). [1]

Histopatologicky se buňky endotelu oplošťují a postupně přestávají souvisle krýt zadní plochu rohovky. Vhodná je konzervativní léčba v aplikaci hypertonického roztoku. Použití lokálních kortikosteroidů podporuje pohyb endotelových buněk při uzavírání vzniklých defektů. Pokud dojde dystrofie do fáze bulózní keratopatie, je indikována zadní lamelární keratoplastika, aby byla zlepšena především zraková ostrost. Keratoplastiku je dobré provést co nejdříve, není dobré ji odkládat do doby, než je rohovka zasažena celá. [1, 12]



Obr. 9 – Klinické rysy Fuchsovy endoteliální dystrofie rohovky (FECED). (A) Fotografie štěrbinové lampy ukazující edém centrální rohovky u pacienta s FECED. (B) Fotografie retroilluminační zobrazující centrální (horní šipka) a periferní (dolní šipka) gutty. (C) Bezkontaktní zrcadlová mikrofotografie ukazující endotel rohovky (bílý) a guty (tmavé prostory) u pacienta s FECED. Měřítka = 50 μm . Upraveno [38]

Zadní polymorfni dystrofie (Posterior polymorphous dystrophy) je oboustranné, pomalu progresivní onemocnění. Je autozomálně dominantně dědičné a nejčastěji se projevuje kolem 30 a 40 let života. Je charakterizováno poruchou endotelu a Descemetovy membrány, často je spojena s poruchami struktur úhlu a duhovky. [1, 12] Typický mikroskopický rys dystrofie je přítomnost vícevrstevných endotelových buněk, které se chovají jako fibroblasty. [5]

Na štěrbinové lampě pozorujeme různé typy. Například ložiskový typ se vyskytuje jako drobná okrouhlá a oválná ložiska v oblasti ztlustělé Descemetovy membrány, která se objevují samostatně nebo v koloniích, většinou bez edému rohovky. U těžších případů se vyskytuje také edém stromatu a poté i epitelu. Pro geografický typ jsou charakteristické rozsáhlé geografické plochy abnormálního endotelu. Celulární typ nelze zjistit biomikroskopicky, ale je zapotřebí zrcadlová mikroskopie. U spousty pacientů doprovází tyto změny plošné zašednutí Descemetovy membrány, keratopathia zonularis, iridokorneální periferní adheze, atrofie stromatu duhovky a ektropium pigmentového listu duhovky. V diferenciální diagnostice je třeba odlišit vyskytující se iridokorneální endotelové syndromy, dysgeneze předního segmentu a ve stadiu edému rohovky je obtížné odlišit Fuschovu dystrofii. V elektronové mikroskopii je zjevná epitelializace buněk endotelu, které se dělí a degenerují. Při léčbě je důležité dbát na včasnou detekci glaukomu. Při lokální léčbě je nutné přistoupit na trabekulektomii, což je operace prováděna pro snížení nitroočního tlaku a při které je indikováno primární použití mitomycinu. V pokročilých stádiích je doporučena perforující keratoplastika. Recidiva (návrat) dystrofie na transplantátu je možná. [1, 12]

Iridokorneální endotelový syndrom se skládá ze skupiny očních onemocnění, u kterých je společným znakem novotvoření endotelových buněk rohovky, které se pohybují směrem k iridokorneálnímu úhlu a k duhovce. Velmi často se vyskytuje společně s glaukomem, protože patologická tkáň přerůstajících endotelových buněk úhel uzavře. Byl popsán v roce 1979 Yanoffem. [23, 29]

Dnes zahrnují původně tři samostatná onemocnění. Chandlerův syndrom, Esenciální atrofie duhovky a Cogan-Reese syndrom. Charakteristickým společným znakem jsou zejména nepravidelnosti na duhovce, kterých si může všimnout sám pacient. Nepatří mezi dědičná onemocnění. [1, 12, 23]

Chandlerův syndrom je charakterizován: výraznými změnami na rohovce (endotel má vzhled tepaného kovu, edémem rohovky, epiteliálními bully), normálním nitroočním tlakem, ztenčením duhovky a deformací zornice. [23]

Esenciální atrofie duhovky je postupně se rozvíjející onemocnění. Charakteristické znaky jsou: atrofie duhovky, otvory v duhovce a deformace zornice.

Cogan-Reese syndrom se vyznačuje změnami architektury na duhovce jako pigmentové uzlíky. Podle Yanoffa a Scheieho jsou popsány dva typy uzlíků, první

jemný a stopkatý, druhý matný. Rohovka se vyznačuje vzhledem tepaného kovu. Zpočátku bývá rohovka čirá, ale může se vyvinout také otok. Nevyskytuje se abnormalita úhlu. [23]

Syndrom ICE se nejběžněji vyskytuje mezi 30 a 50 lety a častější výskyt je u žen. Endotel má vzhled bitého kovu nebo dlážděného kamene a vytváří se nepravidelné goniosynechie (srůsty v komorovém úhlu). Základním krokem léčby je snížení nitroočního tlaku pomocí medikamentózní léčby antiglaukomatik. Pokud není dostatečná, musíme přistoupit k chirurgickému zákroku. Při přetrvávající vysoké nitrooční tenzi může docházet k nevratnému poškození zrakového nervu s výpadky v zorném poli. [22]

X-vázaná endoteliální dystrofie rohovky se projevuje se jako vrozené zakalení skel rohovky nebo difúzní zákal rohovky. V souladu s X dědičným chromozomem přenášejí postižení muži poruchu na své dcery, ale ne na své syny. Muži jsou postižení více než ženy a zakalení rohovky může být závažné a spojené s nystagmem. Pomocí světelné a transmisní elektronové mikroskopie pozorujeme nerovnosti na endotelu. Descemetova membrána je nepravidelně zesílená malými jamkami a výkopy. [15]

2.4.3 Degenerativní onemocnění endotelu a endoteliopatie

Onemocnění, kdy dochází ke změnám na endotelu rohovky například s věkem nebo v souvislosti s některým systémovým onemocněním, mohou se ale objevit i samostatně. [19]

Endoteliopatie rohovky je široký termín používaný ke klasifikaci několika nemocí a klinických okolností, které ovlivňují strukturu a funkci endotelu rohovky například nošením kontaktních čoček nebo při chirurgii, především u operací katarakty a transplantací rohovky. Endotel rohovky je odpovědný za udržování správné hydratace rohovky, klinicky významné endoteliopatie rohovky mohou vést k otokům a ztrátě průhlednosti. [19, 21]

Hassalova-Henleova tělíška řadíme mezi degenerativní onemocnění. Hassalova-Henleova tělíška jsou protruze v periferii Descemetovy membrány. Jsou způsobeny lokální hyperprodukcí kolagenu buňkami endotelu. [12]

Cornea guttata je nejčastější degenerativní onemocnění rohovky. Může se vyskytovat jako součást normálního procesu stárnutí, v endoteliálních dystrofiích (viz kapitola 2.4.2) nebo sekundárně k očnímu zánětu nebo traumatu. Cornea guttata postihuje hlavně centrální oblast rohovky, a pokud má mírný nebo střední průběh, obvykle nemá žádný vliv na zrakovou ostrost. Jsou přítomny u 70 % populace starší 40 let. Přirozený vývoj progresu cornea guttata zahrnuje pět konkrétních stadií vývoje, které lze rozeznat pomocí zrcadlové mikroskopie.

Endoteliopatie vyvolaná glaukomem se projevuje po dlouhodobém vystavení endotelu zvýšenému nitroočnímu tlaku a způsobuje snížení hustoty endoteliálních buněk. Nejedná se však jen o snížení pouze při zvýšení nitroočního tlaku, ale také pokud dochází i k dalším fyziologickým změnám v glaukomatickém oku, jako je abnormální odtok vody nebo snížená koncentrace kyslíku ve vodě. [21]

Ke změnám na endotelu rohovky dochází například s věkem, nošením kontaktních čoček nebo při chirurgii, především u operací katarakty a transplantací rohovky. [19]

Endoteliopatie vzniklé po chirurgickém zákroku můžeme rozdělit do dvou skupin podle příčiny. První příčina této endoteliopatie je po operaci katarakty a druhá po transplantaci rohovky.

Po operaci katarakty nastává, dobře známý nežádoucí vedlejší účinek, ztráta endoteliálních buněk rohovky, který může v závažných případech negativně ovlivnit pooperační vizuální výsledky pacientů. [28] Za 1–5 dní po extrakci katarakty byl zaznamenán variabilní pokles hustoty endoteliálních buněk v závislosti na chirurgickém traumatu. Po těchto počátečních ztrátách buněk klesá hustota endoteliálních buněk průměrnou rychlostí 2,5 % ročně po dobu nejméně 10 let po chirurgickém zákroku, s implantovanou umělou čočkou či bez ní. To je čtyřnásobek rychlosti u neoperovaných očí. [22]

Při transplantaci rohovky (penetrační keratoplastika) je centrální endotel příjemce nahrazen endotelem alogenní dárčovské rohovky. Po transplantaci je hustota endoteliálních buněk dárčovských rohovek snížena. Míra sníženého množství endoteliálních buněk je ovlivněna způsobem a délkou skladování dárčovské rohovky a chirurgickou technikou. V první fázi po transplantaci klesá hustota endoteliálních buněk na rohovce dárce poměrně rychle. Postupně se klesající tempo zpomaluje. Do 3 let se ztrácí 53 % původní hodnoty endoteliálních buněk. [22]

Endoteliopatie vzniklé vlivem nošení kontaktních čoček způsobuje, že se endotelové buňky stávají rozmanitějšími ve velikosti (polymegatismus) a ve tvaru (pleomorfismus). [22]

Nošení kontaktních čoček s nízkou propustností kyslíku se jeví jako primární příčina. Hypoxie vyvolaná kontaktními čočkami může také způsobit poškození endoteliálních buněk a ztrátu endoteliální funkce. Přerušeno nošení kontaktních čoček nevede k rychlému zvrácení morfologických změn. Určitý stupeň zotavení je však možný během několika let, pokud je opotřebením kontaktních čoček přerušeno nebo pokud pacient přejde na kontaktní čočky s výrazně vyšším stupněm propustnosti kyslíku. Endoteliopatie vyvolaná kontaktními čočkami může vyvolat klinické příznaky a příznaky spojené s edémem rohovky. Kromě rozmazaného vidění a fotofobie si nositelé kontaktních čoček mohou stěžovat na pocit cizího tělesa při nošení kontaktních čoček. [21]

2.5 Vyšetření endotelu

Endotel můžeme pozorovat buď konfokální (hustota endotelových buněk), nebo zrcadlovou mikroskopií, šterbinovou lampou, histologicky (barvení trypanovou modří a alizarinem) nebo imunohistochemicky. [3] Díky podrobné analýze endotelu můžeme získat informace o velikosti buněk, buněčné hustoty a buněčného tvaru.

Vyšetření endotelu šterbinovou lampou

Vyšetření šterbinovou lampou je jedno z nejnáročnějších vyšetření části rohovky. Vyšetřuje se pomocí úzkého paprsku při velkém zvětšení. Důležité je nastavení osvětlovacího systému a mikroskopu, protože úhel dopadu se musí rovnat úhlu odrazu. Zobrazí se jen malá část a odraz endotelu je pozorovatelný pouze skrz jeden okulár, jedním okem. Endotel je však vyšetřen pod malým zvětšením, neodhalilo by velké změny. [26]

Spekulární mikroskopie

První biomikroskopický odraz rohovkového endotelu se objevil už v roce 1920, ale první spekulární mikroskop vyvinul David Maurice v roce 1968, sloužil ke sledování endoteliálních buněk. Při pozorování nedochází k poškození endotelových

buněk. Od 70. let 20. století se vyvinula řada spekulárních mikroskopů, zpočátku kontaktních, ale později bezkontaktních. [19]

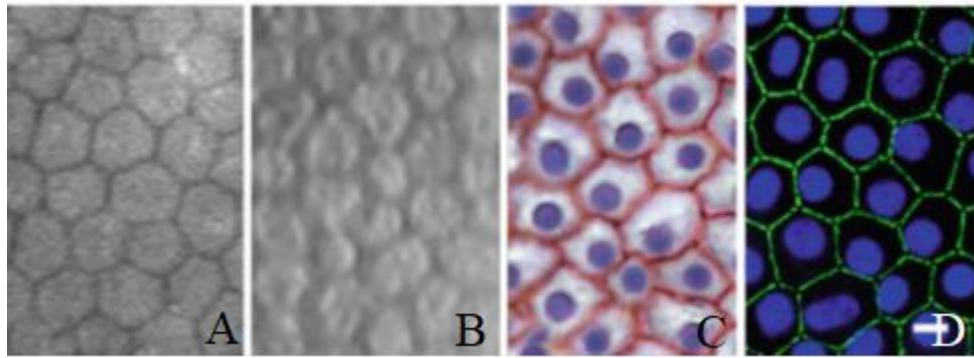
Spekulární mikroskopie je neinvazivní metoda, která prostřednictvím fotografií umožňuje vizualizovat a analyzovat endotel rohovky. Moderní zrcadlové mikroskopy analyzují velikost, tvar, hustotu a distribuci endotelových buněk. Endoteliální buňka má pravidelný polygonální tvar. Fyziologická hustota je 3000 buněk / mm². Hustota buněk pod 1000 buněk / mm² je spojena s rizikem dekompenzace endotelu. Přístroj promítá světlo na rohovku a zachycuje obraz, který se odráží od optického rozhraní mezi endotelem rohovky a komorovou vodou. Odražený obraz je analyzován přístrojem a zobrazen. [21] V klinické praxi je spekulární mikroskopie nejpřesnějším způsobem, jak vyšetřit endotel rohovky, endotel je zobrazen pod velkým zvětšením.

Konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskopii vynalezl Marvin Minsky v roce 1955, využívá optické zobrazování k vytvoření virtuálního řezu nebo roviny v tkáni. Poskytuje vysoce kvalitní obraz s jemnými detaily a kontrastem. Paprsek přicházejícího světla je zaostřen objektivem mikroskopu na malé místo uvnitř tkáně. Stejný objektiv zachycuje zpětný odraz světla, který následně detekuje a analyzuje. Je-li zachyceno více tkáňových řezů současně, jsou poté zpracovány do podoby trojrozměrných obrazů. Klinicky se úspěšně používá k odhalení odlišných charakteristik Fuchsovy endoteliální dystrofie, různých traumatických lézí a infekčních keratitid. [27, 28]

Fluorofotometrie

Metoda obarvení fluoresceinem přední plochy rohovky. Fluorescein se nanese na přední plochu rohovky a měří se propustnost, dokud se nesmísí s komorovou vodou. Existuje mnoho variant této metody, používá se například pro zjišťování cirkulace komorové vody v přední komoře. Jones a Maurice použili metodu aplikace fluoresceinu, aby vyvinuli metodu pro stanovení koeficientu eliminace přední komory a průtoku vody. Goldmann byl schopen samostatně určit koeficienty eliminace přední komory v důsledku proudění a difúze. [25]



Obr. 10 – Endotelové zobrazení pomocí různých technik A. Konfokální mikroskopie, B. Spekulární mikroskopie, C. Histologicky (barvení trypanovou modří a alizarinem) D. Imunohistochemicky. Upraveno [3]

3 ENDOTELOVÁ CHIRURGIE A JEJÍ NEJNOVĚJŠÍ TRENDY

Transplantace rohovky (keratoplastika) patří mezi nejstarší a nejúspěšnější formu transplantace tkáně. První pokusy o chirurgii rohovky datujeme mezi lety 100-200 našeho letopočtu. Samotné přední lamelární keratoplastiky se začaly provádět až koncem 19. století, kdy byly odstraněny nežádoucí vrstvy přední části rohovky, bez poškození hlubších vrstev, jako je Descemetova membrána a endotel. První pokusy lamelární transplantace byly provedeny v roce 1886, kdy Von Hippel transplantoval králičí rohovku na lidské lamelární rohovkové lůžko, operace však nebyla úspěšná, štěp se poté stal neprůhledným. V roce 1905 proběhla první úspěšná transplantace v plné tloušťce Konradem Zimrem, na Oční klinice v Olomouci, kde byl na rohovkové lůžko lidského oka transplantován štěp z lidského oka, který zůstal čistý. Po 6 měsících se pacientova ostrost zlepšila na 6/36. [31, 33]

Od roku 1998 se jako alternativy k perforující keratoplastice při léčbě endoteliálních poruch rohovky zavedly různé techniky endoteliální keratoplastiky.[30] Klasifikujeme na přední a zadní keratoplastiky. Mezi přední keratoplastiky patří prvních 30-40 % rohovky. Do zadních keratoplastik řadíme postupy, které se používají k nahrazení endotelu rohovky a léčbě stavů, při kterých je postižený pouze endotel a ostatní vrstvy nejsou ovlivněny. Například při endoteliálních dystrofiích. [33]

3.1 Endoteliální keratoplastika (EK)

Nejoblíbenějšími technikami zadní lamelární keratoplastiky jsou v současnosti Descemetova stripovací automatizovaná endoteliální keratoplastika (DSAEK, Descemet stripping automated endothelial keratoplasty) a endotelová keratoplastika Descemetovy membrány DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty). [31]

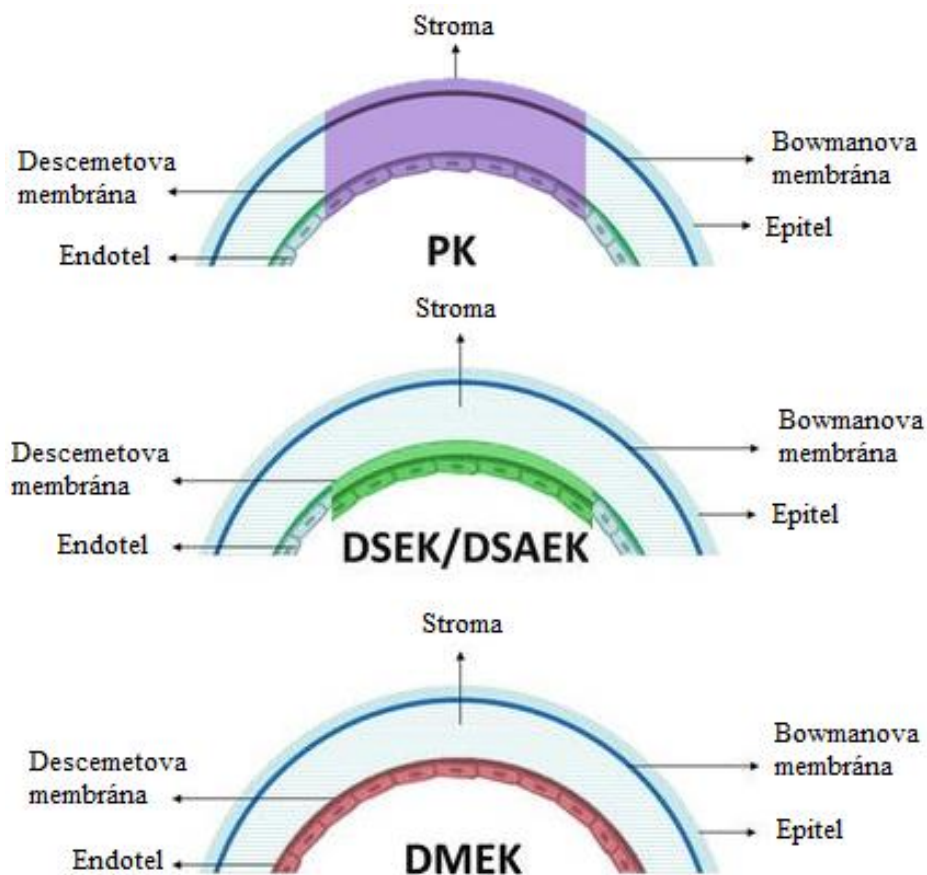
Endoteliální keratoplastika je operace (náhrada) endotelu rohovky bez povrchových řezů nebo stehů rohovky. [30]

Mezi výhody EK patří rychlá a efektivní operace se sníženou manipulací, nízké chirurgické riziko, málo nebo žádné stehy, krátká doba zotavení a vylepšený vizuální výsledek. [3] Tyto techniky byly ve Spojených státech popularizovány jako hluboká lamelární endoteliální keratoplastika DLEK, a Descemetova stripovací automatizovaná endoteliální keratoplastika DSAEK. V roce 1998 byla popsána technika pro selektivní

transplantaci Descemetovy membrány přes samouzavírací 3,5 mm čirý řez rohovkou, předběžně pojmenovaný endoteliální keratoplastika Descemetovy membrány (DMEK). [30]

U zadní lamelární keratoplastiky (PLK) nebo endoteliální keratoplastiky (EK) je část zadní rohovky příjemce nahrazena zdravou tkání. Pokud má pacient funkční endotel, přední lamely se používají k léčbě patologických stavů přední rohovky, zejména stromálních dystrofií, jizev nebo keratokonů. V očních bankách lze přední lamely připravit pomocí mikrokeratomu, femtosekundového laseru nebo pneumatické disekce. Riziko rozvoje odmítnutí endoteliálního štěpu po zadní lamelární keratoplastice je ve srovnání s perforující keratoplastikou významně sníženo. [31]

EK vykazuje menší pravděpodobnost výskytu indukovaného astigmatismu, protože povrch rohovky příjemce není ohrožen. Problémy související se stehy jsou eliminovány, protože endoteliální keratoplastika nevyžaduje žádné rohovkové stehy, na rozdíl od penetrující keratoplastiky. Komplikace související se stehy jsou eliminovány, protože endoteliální keratoplastika je bezstehová, na rozdíl od perforující keratoplastiky. Pravděpodobnost vzniku infekce vstupních ran v rámci pooperačního hojení je ve srovnání s transplantací rohovky v plné tloušťce výrazně nižší díky znatelně menším řezům. [30]



Obr. 11 – Endotelová chirurgie 1. Penetrační keratoplastika (Náhrada rohovky v její plné tloušťce) 2. Descemetova stripující endotelová keratoplastika 3. Endoteliální keratoplastika Descemetovy membrány, upraveno [45]

3.1.1 Descemetova stripovací automatizovaná endoteliální keratoplastika (DSAEK)

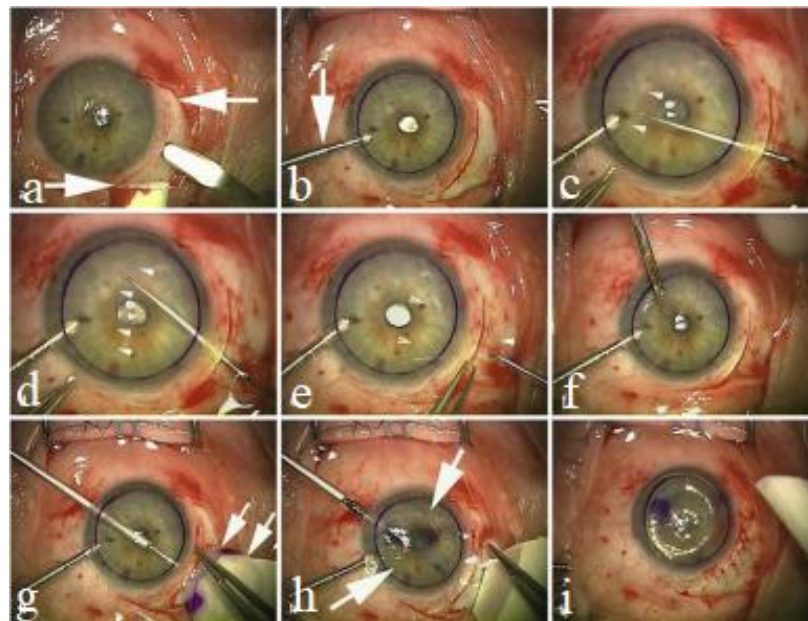
DSAEK se využívá pro léčbu endoteliálních poruch rohovky bez pokročilého a nevratného zjizvení stromatu rohovky. Díky zvýšené tloušťce štěpu se DSAEK provádí u složitých anatomických nebo chirurgických předpokladů. To platí hlavně pro oči novorozenců, oči s hypotonií nebo oči se silikonovým olejem.[31]

Chirurgická technika DSAEK je tvořena 4 až 5 mm limbálním nebo korneosklerálním řezem používaným k zavedení dárcovské tkáně. Endotel a Descemetova membrána příjemce jsou pečlivě odstraněny. Příprava dárcovské tkáně se provádí pomocí automatizovaných prostředků, jako jsou mikrokeratom nebo femtosekundový laser. Přípravu tkáně může provést operační chirurg před operací nebo technik oční banky. Poté, co je dárcovská tkáň připravena, je řezána trefínem na požadovaný průměr, obvykle 8–9 mm, a zadní lentikul je vložen do přední komory příjemce pomocí různých chirurgických nástrojů (kleště, klouzačky, zavaděče). Po

správném rozvinutí je endotelový štěp připevněn k stromatu příjemce pomocí vzduchové bubliny. [32]

Řezy se uzavírají buď hydrogenací, nebo stehy. Odstranění zbytkové tekutiny z rozhraní může usnadnit povrchová masáž rohovky a malé stromální řezy. [31]

Snaha zlepšit vizuální výsledky vedla k trendu ztenčování štěpu. Silnější štěpy ovlivňují tloušťku rohovky, zadní poloměr zakřivení a tím refrakční vlastnosti rohovky. Úspěšně byl popsán dvojitý průchod standardním jednorázovým systémem mikrokeratomu na štěpu dárce, ale možnou nevýhodou je stále riziko perforace. Také byly vyzkoušeny tenké štěpy využívající laserovou technologii femtosekundového laseru, ale výroba spolehlivě tenkých a hladkých zadních štěpů je obtížná. Závěrem stále platí, že tenčí štěpy DSAEK (rovné nebo menší než 131 μm) měly lepší vizuální výsledky než silnější štěpy 1 rok po operaci. [32]



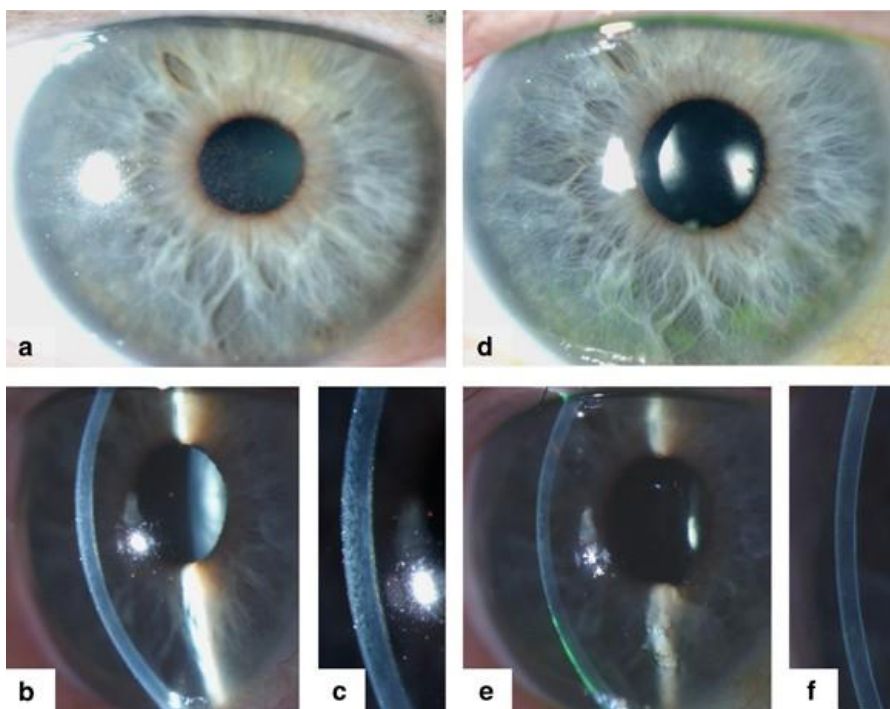
Obr. 12 – Descemetova stripovací automatizovaná endoteliální keratoplastika (DSAEK) - chirurgická technika a) Příprava korneosklerálního tunelu (šipky) b) - e) Odizolování Descemetovy membrány prováděné na kruhu 8 mm f) - h) Implantace štěpu klouzáním (g) a rozvinutím v přední komoře (h), i) Upevnění štěpu vzduchovou bublinou. Upraveno [31]

3.1.2 Endoteliální keratoplastika Descemetovy membrány (DMEK)

DMEK byla poprvé představena v roce 2006. Při tomto zákroku je nemocný endotel nahrazen zdravým. Zahrnuje odstranění Descemetovy membrány z tkáně dárce, zákrok je spojen s vynikajícími vizuálními výsledky. [33]

Lamely pro DMEK se skládají z endotelu a membrány. Existuje několik přístupů používaných pro mechanickou disekci dárcovské tkáně, nejčastěji s využitím pneumatické disekce, mechanického odlupování nebo odizolování membrány spolu s endotelem ze stromatu. Hlavní výhodou DMEK je, že vede k lepší zrakové ostrosti. Na druhé straně je její použití omezeno chirurgickou složitostí. Technicky náročná je příprava a manipulace se štěpem. [3]

Zákrok je doporučován u pacientů s endoteliální dysfunkcí, u iridokorneálního endotelového syndromu nebo při zadní polymorfni dystrofii, protože minimalizuje intraoperační komplikace, jako je například vypuzující krvácení a odchlípení chorioidey spojené s operací otevřené koule. Pomáhá při včasném zotavení zraku s minimem komplikací a eliminuje riziko vzniku astigmatismu. V současné době je považován za spíše refrakční chirurgii kvůli časnému a lepšímu vizuálnímu výsledku. [33]



Obr. 13 – Fotografie oka se štěrbinovou lampou před (a–c) a 3 měsíce (d–f) po endotelové keratoplastice Descemetovy membrány (DMEK) pro Fuchsovu endoteliální dystrofii. [30]

3.1.3 Hluboká přední lamelová keratoplastika (DALK)

DALK zahrnuje téměř celkovou nebo úplnou stromální náhradu při zachování neporušené Descemetovy membrány (DM) a endotelu rohovky. Existuje několik výhod DALK oproti PKP, nejdůležitější je, že není vidět imunitní odmítnutí endotelu rohovky; postup je extraokulární a ne nitrooční, lokální kortikosteroidy lze obvykle vysadit dříve, průměrný 5letý pooperační úbytek endoteliálních buněk je u DALK menší ve srovnání s PKP. [32]

3.2 Nové trendy v endotelové terapii

3.2.1 Přechod od chirurgie rohovky v plné tloušťce k lamelární keratoplastice

Perforující keratoplastika spočívá v náhradě rohovky v její plné tloušťce. Novým trendem se v posledních letech stávají transplantační operace lamelárních forem, které nahrazují jednotlivé postižené vrstvy. Přední vrstvy zastupuje hluboká přední lamelární keratoplastika, která nahrazuje perforující keratoplastiku v případech, kdy jsou poškozené stromální vrstvy. V zadní části rohovky je novým trendem endoteliální keratoplastika, která nahrazuje endotel rohovky (viz graf 2). [35]

DSAEK a DMEK jsou výhodné při léčbě pacientů s Fuchsovou endoteliální dystrofií a jinými formami dekompenzace rohovky způsobenou ztrátou endoteliálních buněk, včetně iridocorneálního endotelového syndromu a vrozené dědičné endoteliální dystrofie. [32]

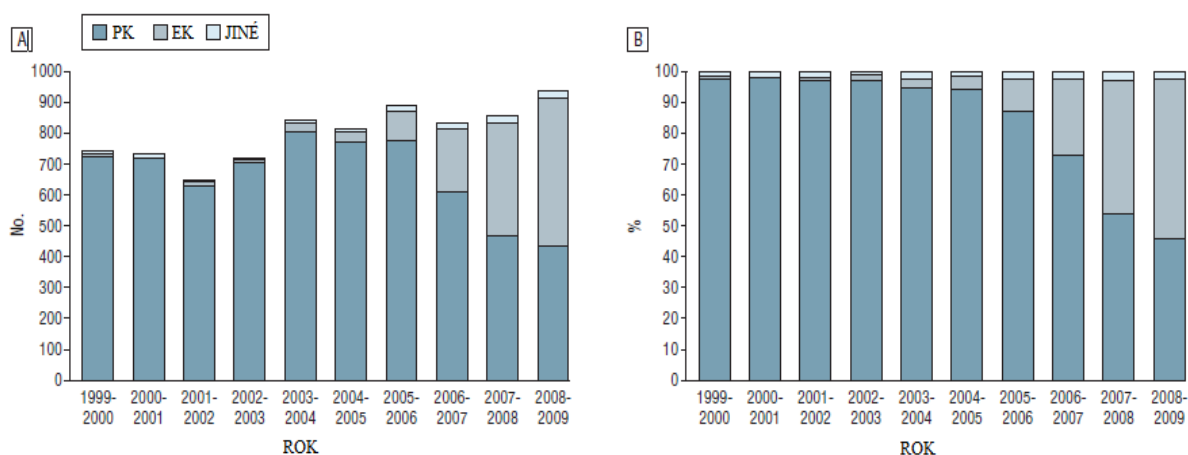
Zhang a spol. [44] vyhodnocovali trend keratoplastiky od roku 2000 do roku 2012 a zjistili, že výrazně poklesl počet perforujících keratoplastik a narostl počet zákroků DSAEK od zavedení lamelární keratoplastiky v roce 2006. V letech 2011-2012 byla Fuchsova endoteliální dystrofie řešena DSAEK v 83 % případů a perforující keratoplastikou ve 13 %. [33]

Od roku 2014 do roku 2016 byly posouzeny trendy chirurgických postupů všech transplantací rohovky, které byly provedeny na Univerzitě v Torontu. V průběhu 3 let byly lamelární keratoplastiky s částečnou tloušťkou provedeny v 880 případech, zatímco penetrační keratoplastiky v plné tloušťce představovaly 224 případů. Provedené částečné lamelární keratoplastiky můžeme rozdělit na DMEK Endoteliální keratoplastiky Descemetovy membrány ve 37 % případů, DSAEK Descemetovy

stripovací automatické endoteliální keratoplastiky ve 30 % a DALK Hluboké přední lamelární keratoplastiky ve 13 %. [34]

Ve Spojených státech Park a spol. ve své desetileté studii [46] zjistili, že došlo k nárůstu celkového počtu transplantací rohovky od roku 2005 do roku 2014. V posledním desetiletí jejich studie bylo zjištěno, že perforující keratoplastika významně poklesla (z 95 na 42 %) a byl pozorován nárůst technik lamelárních keratoplastik (z 5 % na 58 %). DSAEK byl nejběžnějším (50 %) typem transplantace rohovky prováděným ve Spojených státech v roce 2014. Bylo zjištěno, že objem DMEK se od roku 2011 každoročně zdvojnásobuje. [33]

Podle statistické zprávy z roku 2016 z Eye Bank Association of America [47] transplantace endotelu rohovky představovaly 38,8 % z celkového počtu transplantací rohovky provedených v roce 2016 v USA. [37]

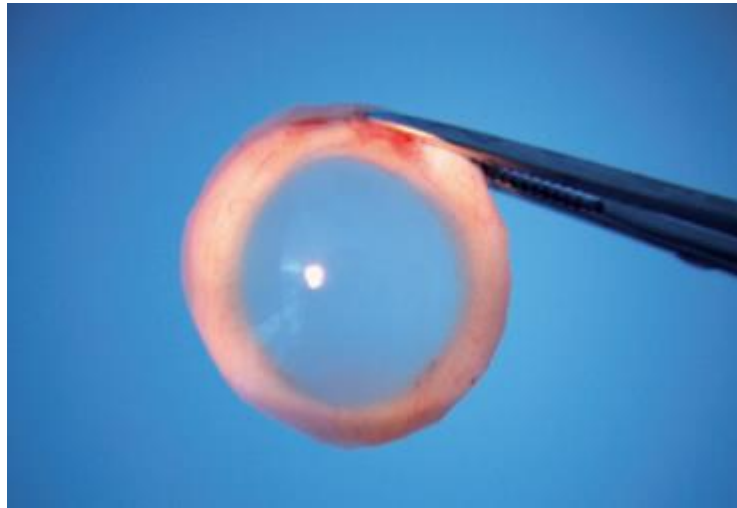


Graf 2 – Roční počty Endoteliální keratoplastiky (EK) a Penetrační keratoplastiky (PK) ve Velké Británii pro období 1999-2009. A) Počet zákroků za rok B) Znázornění počtů v procentech. Upraveno [42]

Pro transplantace rohovky se celosvětově používají dárcovské oční tkáně z posmrtného odběru. První oční banka vznikla v New Yorku v roce 1944. Oční banky zajišťují uložení, posouzení, pozorování a přepravu dárcovských tkání. Odebrání dárcovské rohovky se doporučuje do 12 hodin od smrti dárce. Korneosklerální štěp je uložen a uskladněn ve speciální tkáňové kultuře a je uskladňován. Rohovky se uchovávají pomocí dvou technik. První technika je krátkodobá, v hypotermických podmínkách (viz obr. 14) při teplotě 2–6 °C po dobu max. 14–16 dní (v praxi 10). Tento způsob uchovávání je ve světě nejčastěji využíván. Druhá technika je poměrně

náročnější, dárcovská tkáň se uchovává v orgánových kulturách a skladuje se při teplotě 30–37 °C. Maximální doba uchování je 4–5 týdnů. [33, 55]

V České republice existuje tzv. Národní registr osob nesouhlasících s posmrtným odběrem tkání a orgánů. Úkolem tohoto registru je vést seznam osob, které nesouhlasí s manipulací jejich těla po smrti. [57]



Obr. 14 – Rohovkový štěp [56]

3.2.2 Použití magnetických nanočástic pro regeneraci endotelu

I přes nejnovější trendy v endotelové léčbě je jedinou možností terapie jeho transplantace. Dosud neexistuje metoda, která by endotel dokázala vyléčit šetrnějším způsobem než jeho nahrazením. Současné výzkumy se zaměřují na prevenci selhání rohovkových štěpů po transplantaci a zvýšení kvality a dostupnosti dárcovské rohovky.

Je prokázáno, že selhání endotelových buněk způsobuje trauma během operace katarakty a patologie endotelu, které tak patří mezi nejčastější indikace k transplantaci endotelu rohovky.

Vývoj bezpečné a účinné metody cílené genové terapie endotelu rohovky patří mezi aktuální výzvy v oblasti očního výzkumu. Slibným nástrojem pro terapii endotelu jsou magnetické nanočástice, protože magnetické pole lze použít k jejich správnému nasměrování k endotelu. Nedávné studie [48, 49] uvádějí použití magnetických nanočástic pro cílené dodávání genů a léků u rakovinové terapie, včetně aplikace terapeutického plazmidu k léčbě melanomu [50] a adenokarcinomu [51]. V rámci

výzkumu byly magnetické nanočástice úspěšně testovány jak pro podávání léků, tak pro buněčnou terapii na sítnici [52] a na endotelu rohovky [53, 54]. [36]

3.2.3 Použití kmenových buněk pro regeneraci endotelu

Použití lidských kmenových buněk odvozených z pupečníku je zkoumáno při léčbě dysfunkcí a endoteliálních onemocnění lidské rohovky. Mezi multipotentní typy buněk, kterým byla věnována největší pozornost při regeneraci endoteliálních buněk ubývajících s věkem, patří novorozenecké kmenové buňky z nervových linií, jako jsou kmenové buňky odvozené z pupečníku. Kmenové buňky jiné než z neurálních linií jsou například kmenové buňky odvozené z kostní dřeně, kmenové buňky zubní dřeně a periodontálního vazy, prekuzory odvozené z kůže, embryonální kmenové buňky a indukované pluripotentní kmenové buňky. [37]

4 ZÁVĚR

V mé bakalářské práci se zaměřuji na jednu z částí rohovky, endotel. Práce je rozdělena do tří hlavních kapitol. První dvě kapitoly popisují rohovku a endotel rohovky. Zabývají se především anatomii a funkcemi, uvádí čtenáře této práce do třetí kapitoly, která je zaměřena na moderní trendy v endotelové terapii.

První kapitola stručně popisuje rohovku, anatomii jednotlivých částí. Je popsána fyziologie a v neposlední řadě také vybrané patologie. Ke konci kapitoly jsou zmíněny také možnosti jejího vyšetření.

Těžištěm práce jsou druhá a třetí kapitola. Druhá kapitola se zaměřuje konkrétně na endotel rohovky. Je popsána jeho embryologie, anatomie, histologie, fyziologie a patologie. Propojení mezi druhou a třetí kapitolou tvoří zejména patologie endotelu.

Třetí kapitola je rozdělena na dvě části. První část popisuje nejnovější trendy řešení patologií endotelu rohovky a endoteliální keratoplastiky. Ve druhé části jsou vybrány studie, které se zabývaly vývojem technik transplantací endotelu. Jsou uvedeny a rozebrány závěry výzkumů, které vyhodnocují četnost zákroků endoteliálních keratoplastik ve srovnání s penetračními keratoplastikami. Veškeré údaje o provedených zákrocích nalezneme v očních bankách. Oční banky hrají u transplantací rohovek významnou roli. Jejich hlavním úkolem je uchování a přeprava dárcovských tkání. Závěr práce je věnován nejnovějším studiím z oblasti terapie endotelu rohovky. První studií je použití magnetických nanočástic pro regeneraci endotelu rohovky, která popisuje dodávání léčiv na konkrétní místo v endotelu právě pomocí nanotechnologií. Druhou nedokončenou studií je použití kmenových buněk pro regeneraci endotelu. Zkoumá se jejich použití při léčbě.

Na základě informací z práce je zřejmé, že četnost endoteliálních keratoplastik se stále zvyšuje v porovnání s prováděnými penetračními keratoplastikami.

5 CITACE POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. KUCHYNKA, P. *Oční lékařství*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1163-8
2. DAWSON, D. G., WATSKY, M. A., EDELHAUSER, H. F. *Duane's Ophthalmology: Cornea and Sclera* [online]. ©2009 [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://www.ophed.net/system/files/2011/06/corneaduanes-2927-2927.pdf>
3. JIRSOVA, K. *Light and Specular Microscopy*. Springer International Publishing, 2017. ISBN 978-3-319-48843-1
4. LEVIN, L., NILSSON, S., VER HOEVE, J., WU, S., et al. *Adler's Physiology of the Eye*. 11. vyd. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-0-323-05714-1
5. AGARWAL, S. et al. *Textbook of Ophthalmology*. 2. vyd. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2002. ISBN 81-7179-884-5
6. OLÁH, Z., GERINEC, A., ŠEVČÍK, J. *Očné lékařstvo*. Martin: Osveta, 1998. ISBN 8088824745
7. HYCL, J., TRYBUČKOVÁ, L. *Atlas oftalmologie*. 2. vyd. Praha: Triton, 2008. ISBN 978-80-7387-160-4
8. STUDNIČKA, J., LANGROVÁ, H. *Akutní stavy v oftalmologii*. *Medicína pro praxi*, Vol. 10, 2013, No. 5, pp. 207-210
9. LABBÉ, A., KHAMMARI, C., DUPAS, B. et al. *Contribution of In Vivo Confocal Microscopy to the Diagnosis and Management of Infectious Keratitis*. *The Ocular Surface*, Vol. 7, 2009, No. 1, pp. 41-52, ISSN 1542-0124
10. LAKHUNDI, S., SIDDIQUI, R., KHAN, N. A. *Pathogenesis of microbial keratitis*. *Microbial Pathogenesis*, Vol. 104, 2017, pp. 97-109, ISSN 0882-4010
11. ROZSÍVAL, P. *Oční lékařství*. Druhé, přepracované vydání. Praha: Galén, 2017. ISBN 978-80-7492-316-6

12. KRAUS, H. *Kompendium očního lékařství*. Praha: Grada, 1997. ISBN 80-7169-079-1
13. BRÍMOVÁ, Pavlína. *Ošetrovatelská péče v oční chirurgii*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2013. ISBN 978-80-7013-552-5
14. Perry, H. D., Cameron, J. D. *Pathology of the Cornea-Sclera*. EntoKey [online]. ©2016 [cit. 2021-01-29]. Dostupné z: <https://entokey.com/pathology-of-the-cornea-sclera/>
15. Klintworth, G. K. *Corneal dystrophies*. Orphanet Journal of Rare Diseases, Vol. 4, 2009, No. 7, ISSN 1750-1172
16. SANZ-MARCO, E., DELPECH, S. G., LÓPEZ-PRATS, M. J., DÍAZ-LLOPIS, M. *Cross-linking: a new approach to bullous keratopathy*. ARCHIVOS DE LA SOCIEDADESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA, Vol. 86, 2011, No. 12, pp. 419-420, ISSN 0365-6691
17. Rhee, D. J. *Diagnostika a léčba očních chorob v praxi*. Praha: Triton, 2004. ISBN 80-7254-536-1
18. Vyšetření zakřivení rohovky. *Johnson & Johnson VISION* [online]. ©2012 [cit. 2021-01-22]. Dostupné z: https://www.jnjvisioncare.cz/sites/default/files/public/cz/tvci/knihovna/knihovna/zaklad_ykontaktologickepraxe_vysetrenizakrivenirohovky.pdf
19. LOUKOTOVÁ, V., HLINOMAZOVÁ, Z., HORÁČKOVÁ, M., VLKOVÁ, E. *Metody analýzy endoteliální mikroskopie*. Česká a slovenská oftalmologie, Vol. 63, 2007, No. 3, pp. 185-192, ISSN 1803-6597
20. FORRESTER, J. et al. *The Eye*. 4th. Saunders, 2015. ISBN 978-0-7020-5554-6
21. THOMAS, C. *Use Specular Microscopy to Diagnose Corneal Disease*. Review of Optometry, Vol. 146, 2009, No. 6
22. BOURNE, W. M. *Biology of the corneal endothelium in health and disease*. Eye, Vol. 17, 2003, pp. 912-918, ISSN 1476-5454

23. SILVA, L., NAJAFI, A., SUWAN, Y. et al. *The iridocorneal endothelial syndrome*. Survey of Ophthalmology, Vol. 63, 2018, No. 5, pp. 665-676
24. MITTAL, V. *Fuchs Endothelial Dystrophy*. Medscape [online]. ©2018 [cit. 2021-02-26]. Dostupné z: <https://emedicine.medscape.com/article/1193591-overview>
25. COAKES, R. L., BRUBAKER, R. F. *Method of measuring aqueous humor flow and corneal endothelial permeability using a fluorophotometry nomogram*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 18, 1979, No. 3, pp. 288-302, ISSN 1552-5783
26. Vyšetření štěrbinovou lampou. *Johnson & Johnson VISION* [online]. ©2012 [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: https://www.jnjvisioncare.cz/sites/default/files/public/cz/tvci/knihovna/knihovna/zaklad_ykontaktologickepraxe_vysetrenisterbinovoulampou.pdf
27. CHIOU, A. G., KAUFMAN, S. C., BEUERMAN, R. W. et al. *Confocal microscopy in the iridocorneal endothelial syndrome*. British Journal of Ophthalmology, Vol. 83, 1999, No. 6, pp. 697-702, ISSN 1468-2079
28. ROSADO-ADAMES, N., AFSHARI, N. A. *The changing fate of the corneal endothelium in cataract surgery*. Current Opinion in Ophthalmology, Vol. 23, 2012, No. 1
29. CARIDE, S. G., SARDIÑA, R. C., GONZÁLEZ, L. P. *Combined cataract surgery and lamellar endothelial keratoplasty in iridocorneal endothelial syndrome*. Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología, Vol. 95, 2020, No. 9, pp. 451-454, ISSN 2173-5794
30. HAM, L., DAPENA, I., VAN LUIJIK, C. et al. *Descemet membrane endothelial keratoplasty [DMEK] for Fuchs endothelial dystrophy: review of the first 50 consecutive cases*. Eye, Vol. 23, 2009, pp. 1990-1998, ISSN 1476-5454
31. HOS, D., MATTHAEI, M., BOCK, F. et al. *Immune reactions after modern lamellar [DALK, DSAEK, DMEK] versus conventional penetrating corneal transplantation*. Progress in Retinal and Eye Research, Vol. 73, 2019, No. 100768, ISSN 1350-9462

32. KYMIONIS, G. D., MIKROPOULOS, D. G., PORTALIOU, D. M. et al. *New Perspectives on Lamellar Keratoplasty*. *Advances in Therapy*, Vol. 31, 2014, pp. 494-511
33. SINGH, R., GUPTA, N., VANATHI, M., TANDON, R. *Corneal transplantation in the modern era*. *The Indian journal of medical research*, Vol. 150, 2019, No. 1, pp. 7-22
34. CHAN, S. W. S., YUCEL, Y., GUPTA, N. *New trends in corneal transplants at the University of Toronto*. *Canadian Journal of Ophthalmology*, Vol. 53, 2018, No. 6, pp. 580-587
35. TAN, D. TH., DART, J. KG., HOLLAND, E. J. *Corneal transplantation*. *The Lancet*, Vol. 379, 2012, No. 9827, pp. 1749-1761
36. CZUGALA, M., MYKHAYLYK, O., BÖHLER, P. et al. *Efficient and safe gene delivery to human corneal endothelium using magnetic nanoparticles*. *Nanomedicine*, Vol. 11, 2016, No. 14, pp. 1787-1800
37. WHITE, I. A., SABATER, A. L. *Current strategies for human corneal endothelial regeneration*. *Regenerative Medicine*, Vol. 14, 2019, No. 4, pp. 257-261
38. TONE, S. O., KOCABA, V., BÖHM, M. et al. *Fuchs endothelial corneal dystrophy: The vicious cycle of Fuchs pathogenesis*. *Science Direct*, Vol. 80, 2021, No. 100863, ISSN 1350-9462
39. *ANATOMY OF THE HUMAN EYE*. Mission for Vision [online]. ©2005 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <http://www.images.missionforvisionusa.org/anatomy/2005/10/cornea-histology.html>
40. BOGERD, *A review of the evidence for in vivo corneal endothelial regeneration*. *Survey of Ophthalmology*, Vol. 63, 2018, No. 2, pp. 149-165, ISSN 0039-6257
41. SIDDIQUI, R., KHAN, N. A. *Biology and pathogenesis of Acanthamoeba*. *Parasites & Vectors*, Vol. 5, 2012, No. 6, ISSN 1756-3305

42. KEENAN, T. D. L., JONES, M. N. A., RUSHTON, S. et al. *Trends in the Indications for Corneal Graft Surgery in the United Kingdom 1999 Through 2009*. Arch Ophthalmol, Vol. 130, 2012, No. 5, pp. 621-628
43. BOURNE, W. M., NELSON, L. R., HODGE, D. O. *Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 38, 1997, No. 3, pp. 779-782, ISSN 1552-5783
44. ZHANG, A. Q., RUBENSTEIN, D., PRICE, A. J. *Evolving surgical techniques of and indications for corneal transplantation in Ontario: 2000-2012*. Canadian Journal of Ophthalmology, Vol. 48, 2013, No. 3, pp. 153-159
45. BAYDOUN, L., DAPENA, I., MELLES, G. *Current Treatment Options for Fuchs Endothelial Dystrophy*. Switzerland: Springer, 2017. ISBN 978-3-319-43021-8
46. PARK, CH. Y., LEE, J. K., GORE, P. K. *Keratoplasty in the United States: A 10 – Year Review from 2005 through 2014*. Ophthalmology, Vol. 122, 2015, No. 12, pp. 2432-2442, ISSN 0161-6420
47. Eye Bank Association of America. *2016 Eye Banking Statistical Report*. [online]. ©2017 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: <https://fdocuments.in/reader/full/2016-eye-banking-statistical-report-eye-bank-the-2016-eye-banking-statistical>
48. MU, Q., JEON, M., HSIAO, MH. et al. *Stable and Efficient Paclitaxel Nanoparticles for Targeted Glioblastoma Therapy*. Advanced HealthCare Materials, Vol. 4, 2015, No. 8, pp. 1236–1245
49. ALMSTATTER, I., MYKHAYLYK, O., SETTLES, M. et al. *Characterization of Magnetic Viral Complexes for Targeted Delivery in Oncology*. Theranostics, Vol. 5, 2015, No. 7, pp. 667-685
50. PROSEN, L., HUDOKLIN, S., CEMAZAR, M. et al. *Magnetic field contributes to the cellular uptake for effective therapy with magnetofection using plasmid DNA encoding against Mcam in B16F10 melanoma in vivo*. Nanomedicine, Vol. 11, 2016, No. 6, pp. 627-641

51. PRIJIC, S., PROSEN, L., CEMAZAR, M. et al. *Surface modified magnetic nanoparticles for immuno-gene therapy of murine mammary adenocarcinoma*. *Biomaterials*, Vol. 33, 2012, No. 17, pp. 4379-4391, ISSN 0142-9612
52. YANAI, A., HAFELI, U. O., METCALFE, A. L. et al. *Focused magnetic stem cell targeting to the retina using superparamagnetic iron oxide nanoparticles*. *Cell Transplant*, Vol. 21, 2012, No. 6, pp. 1137-1148, ISSN 0963-6897
53. PATEL, S. V., BACHMAN, L. A., HANN C. R., BAHLER, C. K., FAUTSCH, M. P. *Human corneal endothelial cell transplantation in a human ex vivo model*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol. 50, 2009, No. 5, pp. 2123-2131, ISSN 1552-5783
54. MIMURA, T., SHIMOMURA, N., USUI, T. et al. *Magnetic attraction of iron-endocytosed corneal endothelial cells to Descemet's membrane*. *Experimental Eye Research*, Vol. 76, 2003, No. 6, pp. 745-751, ISSN 0014-4835
55. ELISABETH, P., HILDE, B., ILSE, C. *Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage*. *International Ophthalmology*, Vol. 28, 2007, pp. 155-163
56. NÁRODNÍ CENTRUM TKÁNÍ A BUNĚK. *Katalog tkáňových transplantátů* [online]. ©2021 [cit. 2021-5-3]. Dostupné z: https://www.natic.cz/docs_files/PRI-013-2017-katalog-tkanovych-transplantatu_vnitrek_03_21.pdf
57. ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY ČR. *Národní registr osob nesouhlasících s posmrtným odběrem tkání a orgánů*. [online]. ©2021 [cit. 2021-5-3]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--ostatni-rezortni-registry--narodni-registr-osob-nesouhlasicich-s-posmrtnym-odberem-tkani-a-organu>