

## Corneal Collagen Cross-linking for Keratoconus: A Review

Karimian F, MD; Naderi A, MD\*

Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\* Corresponding Author: ali.naderi273@gmail.com

Corneal Collagen Cross-linking (CCL) was introduced and applied to ophthalmology during the past two decades. It has been a major advance in the management of progressive keratoconus and ectasia after laser vision corneal refractive surgery. CCL has successful and significant results in halting the progression of ectasia. The more the prevalence of keratoconus in our region, the more the number of performing this procedure is increasing day by day. There have been many published studies revealing the effect of CCL on corneal steepness, keratometry, pachymetry, visual acuity, biomechanical, and albeit progression of Keratoconus. In this article, many studies related to different aspects and effects of CCL are classified, reviewed, and summarized for concluding this field.

**Keywords:** Collagen Cross-Linking, Keratoconus

- Bina J Ophthalmol 2020; 25 (3): 263-276.

### مروری بر کراس لینک کلاژن قرنیه در کراتوکونوس

دکتر فرید کریمیان<sup>۱</sup> و دکتر علی نادری<sup>۲\*</sup>

کراس لینک کلاژن قرنیه طی دو دهه اخیر معرفی و بکارگیری شده است که یک پیشرفت بزرگ در کنترل قوز قرنیه و اکتازی های ناشی از جراحی های ریفرکتیو قرنیه می باشد و با نتایج موفق و بارزی در این زمینه همراه بوده است. به همان اندازه که شیوع این بیماری و تعداد موارد تشخیص داده شده این بیماری در منطقه ما افزایش پیدا کرده است، بالطبع تعداد دفعات بکارگیری این روش جراحی نیز روز به روز در حال افزایش است. مطالعات متعددی تاثیر کراس لینک کلاژن قرنیه بر نواحی پرشیب قرنیه، کراتومتری، پاکی متری، حدت بینایی، بیومکانیک قرنیه و به طور کل جلوگیری از پیشرفت قرنیه را نشان داده است. در این مقاله سعی شده است مطالعات متعددی در ارتباط با انواع کراس لینک کلاژن قرنیه و تاثیر هر یک در زمینه های مختلف بررسی، طبقه بندی، مرور و خلاصه شود تا بتوان به نتیجه گیری مناسبی دست پیدا کرد.

**کلمات کلیدی:** کراس لینک کلاژن قرنیه - کراتوکونوس

- مجله چشم پزشکی بینا ۱۳۹۹؛ دوره ۲۵، شماره ۳: ۲۶۳-۲۷۶.

• پاسخ گو: دکتر علی نادری (e-mail: ali.naderi273@gmail.com)

۱- استاد - چشم پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

۲- چشم پزشکی - فلوشیپ قرنیه - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

تهران - پاسداران - بوستان نهم - خیابان پایدار فرد (خیابان امیر ابراهیمی) - پلاک ۲۳ - مرکز تحقیقات چشم

#### مقدمه

کراس لینک کلاژن قرنیه (Corneal Collagen Cross-linking) یا CXL=CCL= C<sup>3</sup>R(Riboflavin) در سال های اخیر جایگاه خود را در زمینه کنترل و توقف پیشرفت کراتوکونوس باز کرده است. اهمیت

این جراحی به ویژه در منطقه و کشور ما با توجه به شیوع بالای کراتوکونوس دو چندان می شود.

روش کراس لینک کلاژن در حال حاضر در درمان اکتازی های قرنیه به صورت اولیه و ثانویه پس از جراحی های قرنیه (به طور

مرکزی که مانع دستیابی به دید مناسب می‌گردد، نیاز به پیوند قرنیه پیدا می‌کردند.<sup>۶</sup>

در اواخر دهه ۷۰ شمسی، اولین مطالعه در مورد نقش CXL صورت گرفت که نشان داد قرنیه دچار کراتوکونوس پس از این عمل، قوی‌تر و باثبات‌تر می‌شود. در سال ۱۳۹۵ نتایج مطالعه چندمرکزی وسیعی درباره نقش CXL در بیماران مبتلا به کراتوکونوس در آمریکا صورت پذیرفت که نشان‌دهنده کندی پیشرفت بیماری و کاهش نیاز به پیوند قرنیه در درازمدت بود و در نهایت مورد تایید FDA قرار گرفت.

### نحوه اثر CXL

رشته‌های (فیبریل‌های) کلاژنی قرنیه از لیمبوس به لیمبوس طرف دیگر ادامه می‌یابند و نحوه قرارگیری مولکول‌ها و ساختار رابطه آن‌ها با یکدیگر ثبات مکانیکی قرنیه را تعیین می‌کند. CXL این وضعیت مکانیکی را تثبیت می‌کند و با ایجاد اتصال‌های شیمیایی جدید (کراس‌لینک) در قرنیه مانع از حرکت و لغزش رشته‌های کلاژنی می‌شود.<sup>۷</sup> افزایش میزان کراس‌لینک به طور طبیعی در دیابت شیرین، تحت‌تاثیر تابش آفتاب، مصرف سیگار و ایجاد اسکار قرنیه مشاهده می‌شود.<sup>۸</sup> در مواردی مانند سندرم اهلر دانلس (Ehlers- Danles) این اتصالات کاهش می‌یابند که منجر به تغییرات پاتولوژیک قرنیه می‌شوند. در افزایش سن به تنهایی نیز این اتصالات افزایش می‌یابند که سبب سختی بخش‌هایی از بدن مثل قرنیه، عدسی کریستالی، پوست، عروق خونی و مفاصل می‌گردد.<sup>۹</sup>

در شرایط فیزیولوژیک، مولکول‌های کلاژن در خارج از فضای سلول تحت‌تاثیر آنزیم لیزیل اکسیداز به یکدیگر می‌پیوندند. در این حالت کلاژن می‌تواند ثبات، استحکام و خواص الاستیکی موجود در هر بافت را حفظ کند. در اهلر دانلس، کاهش لیزیل اکسیداز وجود دارد. گمان می‌رود در کراتوکونوس نیز کاهش در ژن این آنزیم باشد، کم شدن pH در اشک این بیماران می‌تواند سبب اختلال فعالیت آنزیم لیزیل اکسیداز شود.<sup>۱۰</sup>

در سال ۱۹۹۸، Spoerl روش کراس‌لینک قرنیه را معرفی کرد. این روش فتوشیمیایی (فتواکسیداتیو) سبب افزایش اتصالات شیمیایی بین رشته‌های کلاژن استرومای قرنیه و ازدیاد سختی قرنیه می‌شود. ریپوفلاوین (ویتامین B2) به عنوان یک رابط نوری یا (Photomediation) حساسگر نوری (Photosensitizer) برای اشعه ماوراء بنفش A (UVA) با طول موج ۳۶۵-۳۷۰ نانومتری می‌باشد که انرژی را جذب کرده، به سطح تحریک شده می‌رساند و

عمده انکساری) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش با توجه به نتایج چشم‌گیر و موفقیت‌آمیز در سال‌های اخیر، توانسته از پیشرفت کراتوکونوس بکاهد. اگرچه مطالعه وسیعی در این مورد صورت نگرفته است اما استفاده از آن، از انجام تعداد زیادی از موارد پیوند قرنیه برای درمان کراتوکونوس کاسته است.

در این بررسی مروری، تاریخچه، روش‌های مختلف انجام CXL و نتایج این جراحی در مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است. کراتوکونوس در اغلب مقالات به عنوان بیماری پیشرونده (به طور عمده) غیرالتهابی و دوطرفه مطرح می‌گردد. اکثر بیماران در زمان آغاز بیماری، در دهه‌های دوم و سوم زندگی هستند اگرچه احتمال می‌رود در سنین قبل و بعد از آن نیز بروز کند. کراتوکونوس در ابتدا با شکایت تاری دید مختصر آغاز می‌گردد و به مرور علائم نزدیک‌بینی همراه با آستیگماتیسم که به تدریج افزایش می‌یابد تظاهر می‌یابد.<sup>۱</sup> اگرچه عیب انکساری ایجاد شده در ابتدا با عینک قابل اصلاح می‌باشد اما با پیشرفت بیماری، آستیگماتیسم به صورت نامنظم درآمده و باید به وسیله انواع مختلف لنز تماسی و در نهایت پیوند قرنیه درمان گردد. نحوه وراثت ژنتیکی و خانوادگی آن به طور دقیق مشخص نشده و به نظر چندعاملی است که عوامل محیطی و مالش دادن چشم مستعد نیز می‌تواند در شروع و پیشرفت آن موثر باشند.<sup>۲</sup>

ارتباط برخی از بیماری‌های سیستمیک همچون آتوپیی و یا سندرم داون و برخی بیماری‌های تاثیرگذار بر ساخت کلاژن نشان داده شده است.<sup>۳</sup>

در مطالعات مختلف، وقوع کراتوکونوس به ۱ مورد در ۲۰۰۰ نفر و در مطالعه‌ای که در یزد انجام گردید، به میزان ۲۲/۵ درصد هزار نفر گزارش گردیده است.<sup>۴</sup> با توجه به شیوع بالا و اغلب درگیری افراد جوان، ابداع و انجام روشی برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و رسیدن به مرحله‌ای که تنها درمان کراتوکونوس پیوند قرنیه باشد، قدم بزرگی در چشم‌پزشکی محسوب می‌گردد.

بروز و پیشرفت آستیگماتیسم نامنظم همراه با رخداد دیگری در قرنیه می‌باشد که آن، نازکی نامنظم و اکتازی بافت قرنیه است. پیشرونده بودن این پدیده باعث افزایش ابیراهی‌های رده بالا و کوما در سیستم بینائی می‌شود که بیمار آن را به صورت چندبینی یک چشمی تجربه خواهد کرد.<sup>۵</sup> تا دو دهه اخیر که کراس‌لینک کلاژن قرنیه معرفی و انجام گردید، هیچ روش مؤثری برای جلوگیری از پیشرفت کراتوکونوس وجود نداشت. قبل از رواج CXL در بسیاری از مطالعات، مشاهده شده بود که حداکثر ۲۷ درصد از بیماران مبتلا به کراتوکونوس به علت اکتازی و نازکی شدید قرنیه و یا اسکارهای

بلافاصله تحت CXL قرار گیرد<sup>۱۴</sup>. راه دیگر پیگیری بیمار در فواصل کوتاه‌تر به طور مثال ۲ تا ۳ ماهه، بررسی مجدد و توصیه اکید به نمانیدن چشم‌ها و قرنیه است. چنانچه در پیگیری‌ها، تغییراتی به نفع پیشرونده بودن اکتازی مشخص شد، باید CXL صورت گیرد. وقوع یک یا چند اتفاق زیر به عنوان اندیکاسیون انجام CXL در نظر گرفته می‌شود:

- ۱- سن کمتر از بیست سال: اگر در این سنین کراتوکونوس آغاز شود احتمال پیشرفت و بدتر شدن آن بیشتر است. در زیر ۲۵ سال هم فواصل بررسی قرنیه کوتاهتر و باید در حد هر ۳ تا ۶ ماه باشد.
  - ۲- افزایش حداکثر قدرت انکساری قرنیه (Kmax) بیش از یک دیوپتر در مدت یک سال
  - ۳- افزایش میزان نزدیک بینی بیش از ۰/۵ دیوپتر در رفرکشن در مدت یک سال
  - ۴- افزایش میزان آستیگماتیسم انکساری بیش از ۰/۵ دیوپتر در مدت یک سال
  - ۵- افزایش قدرت میانگین قرنیه بیش از ۰/۵ دیوپتر در مدت یک سال
  - ۶- کاهش ضخامت قرنیه در نازک‌ترین نقطه بیش از ۱۰ درصد یا ۱۰ میکرون در مدت یک سال
  - ۷- تغییرات نماه‌های (پترن‌های) توپوگرافی/توموگرافی به سمت نامنظمی
  - ۸- اثبات تغییر و پیشرفت در یک چشم
  - ۹- سابقه آتوپی، حساسیت چشمی و تریزومی ۲۱
- تغییر و تار شدن دید در برخی بیماران باید به عنوان زنگ خطری برای شروع تغییرات قرنیه که ایجاد شده (یا می‌شود) در نظر گرفته شود<sup>۱۵</sup>.

### روش انجام استاندارد کراس لینک (Dresden Technique)

جراحی در تمامی موارد به غیر از کودکان یا بیماران عقب‌افتاده ذهنی، با بی‌حسی موضعی انجام می‌پذیرد. بعد از چکاندن یک قطره بی‌حس‌کننده موضعی (تتراکائین ۰/۵ درصد) برای ۳ مرتبه به فاصله ۵ دقیقه، با مارکر ۸ میلی‌متری اپی‌تلیوم قسمت مرکزی که دربرگیرنده بخش نازک قرنیه است علامت‌گذاری می‌شود. برداشتن اپی‌تلیوم می‌تواند به روش مکانیکی یا بعد از تاثیر الکل ۲۰ درجه برای ۲۰ ثانیه و شستشوی سطح قرنیه انجام پذیرد. سپس از ریبوفلاوین ۰/۱ درصد در دکستران ۲۰ درصد به فواصل ۲ تا ۵ دقیقه برای نیم ساعت استفاده می‌شود. در شروع، ضخامت قرنیه بدون اپیتلیوم باید بیشتر از ۴۰۰ میکرون باشد. در صورتی

به دنبال آن، رادیکال‌های آزاد ایجاد و منجر به تشکیل اتصال‌های (باند‌های) شیمیایی جدید می‌شوند<sup>۱۱،۱۲</sup>. ریبوفلاوین دارویی غیرسمی و در دسترس می‌باشد.

در CXL دو واکنش نوع اول و دوم اتفاق می‌افتد. برای واکنش نوع II، اکسیژن مورد نیاز است. اگر اکسیژن مورد لزوم به وسیله UV کاهش یابد با احتمال بیش‌تر، واکنش نوع اول انجام می‌شود. در نتیجه این فرآیند فتوشیمیایی، مواقع فعال در طول رشته مولکول کلاژن با یکدیگر و با مولکول‌های دیگر کلاژن واکنش ایجاد کرده، اتصال‌های کواوالنتی بین اسیدهای آمینه (به ویژه هیستیدین، هیدروکسی لیزین، تیروزین و ترئونین) صورت می‌گیرد. به دنبال این واکنش‌ها، اتصال متقاطع یا Cross Linkage انجام می‌پذیرد<sup>۱۳</sup>. پیش‌نیاز این سیستم واکنشی، جذب نور برای آغاز واکنش‌های شیمیایی است. به عبارت دیگر CXL زمانی انجام می‌پذیرد که نور UV ریبوفلاوین را فعال می‌کند. ریبوفلاوین، هم ایجادکننده رادیکال‌های آزاد است و هم در غلظت بالا این رادیکال‌ها را گیر می‌اندازد (Scavenger). بدین ترتیب تعادلی بین تشکیل و خروج رادیکال‌های آزاد شده ایجاد می‌گردد. با افزایش غلظت ریبوفلاوین حالت اشباع رخ می‌دهد و میزان تشکیل رادیکال‌های آزاد را بیشتر نمی‌کند<sup>۱۴</sup>.

بر اساس قانون Bunsen- Roscoe (قانون معکوس بودن قدرت فتوشیمیایی) اگر میزان شدت تابش افزایش و زمان واکنش کاهش یابد، میزان تاثیر فتوشیمیایی واحدی حاصل خواهد شد. به طور مثال تابش ۳ دقیقه‌ای با قدرت ۳۰ mw/cm<sup>۲</sup> مشابه ۵ دقیقه تابش با قدرت ۱۸ میلی‌وات یا ۱۰ دقیقه تابش با قدرت ۹ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع می‌باشد. در تمامی این موارد، انرژی دریافتی ۵/۴ ژول بر سانتی‌متر مربع خواهد بود. توضیح آن که ۱ ژول برابر ۱ وات در ثانیه می‌باشد و ۳ دقیقه (۱۸۰ ثانیه) تابش با قدرت ۳۰ میلی‌وات (۰/۳ وات) بر سانتی‌متر مربع در نهایت (ژول بر سانتی‌متر مربع)  $۵/۴ = ۱۸۰ \times ۰/۳$  ایجاد خواهد کرد<sup>۱۴</sup>.

### اندیکاسیون انجام کراس لینک

آیا هر بیمار مبتلا به کراتوکونوس که مراجعه می‌نماید نیاز به انجام CXL دارد؟

مشابه هر جراحی دیگر و با توجه به احتمال بروز عوارض این عمل، هر بیمار مبتلا به کراتوکونوس کاندید مناسبی برای انجام CXL نمی‌باشد. برخی از چشم‌پزشکان در مورد کراتکتازی پس از لیزیک اعتقاد دارند که هر بیماری که دچار این نوع اکتازی شد با توجه به پیشرونده بودن سیر این عارضه به ویژه پس از لیزیک، باید

اپیتلیوم قرنیه در نظر گرفته می‌شد. در این روش ۸ تا ۹ میلی‌متر مرکزی اپیتلیوم برداشته شده و ریپولایون ۰/۱ درصد در دکستران ۲۰ درصد برای نیم ساعت چکانده می‌شود. سپس برای نیم ساعت بعدی اشعه UVA با قدرت ۳ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع تابانیده می‌شود. برداشتن اپیتلیوم می‌تواند همراه با عوارض متعددی باشد: خطر بروز عفونت حین ترمیم اپیتلیوم، ترمیم تاخیری اپیتلیوم، تاری دید گذرا، کدورت قرنیه، ذوب شدن قرنیه و درد شدید (به علت در معرض قرار گرفتن اعصاب قرنیه و آزاد شدن واسطه‌های التهابی)<sup>۱۷</sup>. برای پیشگیری از این عوارض نگهداشتن اپیتلیوم قرنیه و عدم برداشتن آن (Epi- On) پیشنهاد گردید. برای بسیاری از جراحان نگهداشتن اپیتلیوم ایده‌آل به نظر می‌رسد. ریپولایون ۰/۱ درصد در دکستران هیدروفیل بوده و نمی‌تواند از اپیتلیوم لیپوفیل عبور کند. به منظور تسریع عبور مولکول‌های ریپولایون به آن موادی چون بنزالکونیوم کلراید (BAK) تراکائین، ترومتانول (Trometanol)، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و هیدروکسی پروبیل متیل سلولز اضافه شد. این مواد اتصالات بین سلول‌های اپیتلیوم را سست کرده، باعث افزایش تراوایی اپیتلیوم و نفوذ بهتر محلول ریپولایون به داخل استرومای قرنیه می‌شود<sup>۱۸</sup>.

### نتایج بالینی

Wollensak در سال ۲۰۰۳ ایده به کارگیری کراس لینک قرنیه برای مهار پیشرفت کراتوکونوس را مطرح کرد. در مطالعه وی ۲۳ چشم مبتلا به کراتوکونوس بررسی شدند که بعد از کراس لینک در تمامی موارد، پیشرفت متوقف گردید و در ۱۶ چشم علائم پس‌رفت (رگرسیون) مشاهده شد<sup>۱۳</sup>. این نخستین باری بود که یک روش درمانی برای توقف پیشرفت کراتوکونوس دارای نتایج موفق بود. بلافاصله مطالعات دیگری با نتایج موفق برای تثبیت پیشرفت قوز قرنیه منتشر گردید. در اغلب مطالعات ابتدایی، گروه شاهد وجود نداشت یا معیارهای گروه درمان دقیق نبودند که این مشکلات، نتیجه‌گیری از مطالعات را دشوار می‌کرد. در سال ۲۰۱۷ گروه مطالعه نتایج کراس لینک در آمریکا نتایج تاثیر CXL در موارد کراتوکونوس یا اکتازی قرنیه پس از جراحی رفرکتیو را اعلام کرد<sup>۱۴</sup>. این مطالعات چندمرکزی، آینده‌نگر، تصادفی و دارای گروه شاهد (با دارونما) بودند. بیمارانی در این مطالعات وارد شدند که سن حداقل ۱۴ سال، توپوگرافی اگزایال با تشخیص کراتوکونوس و حداکثر کراتومتری ۴۷ دیوپتر داشتند، اختلاف قدرت قرنیه در بخش تحتانی به فوقانی مساوی یا بیش از ۱/۵ دیوپتر، بهترین دید دور اصلاح‌شده بدتر از ۲۰/۲۰ و ضخامت قرنیه بیش از ۴۰۰

که ضخامت قرنیه نازکتر از ۴۰۰ میکرون باشد، می‌توان از روش‌های کمکی چون استفاده از لنز نرم تماسی بدون UV-blocker) در زمان تابش یا از ریپولایون هیپوتونیک (۰/۱ درصد در آب استریل) و سالی‌های هیپوتونیک استفاده کرد. پس از خاتمه نیم ساعت اول که وجود ریپولایون در استروما با معاینه به وسیله اسلیت‌لمپ مشاهده می‌شود، مرحله تابش UVA آغاز می‌گردد. طی چکاندن قطره ریپولایون بهتر است اسپکولوم چشمی برداشته شود تا چشم بسته بماند. این روش سبب کاهش سرعت تبخیر آب از استروما و ایجاد نازکی ناخواسته بیشتر و کاهش خطر عفونت می‌شود<sup>۱۳</sup>. برای مرحله تابش UVA دوباره اسپکولوم چشمی گذاشته شده و قطر مناسب اشعه بر روی استروما تابانیده می‌شود. باید دقت شود که حین تابش، ملتحمه و سلول‌های بنیادی ناحیه لمب خشک نشده و یا تحت‌تاثیر تابش اشعه UVA قرار نگیرند. در طول زمان تابش اشعه که بر اساس انرژی تنظیم شده دستگاه تغییر می‌کند، به فواصل مجدداً قطره ریپولایون و قطره آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف چکانده می‌شود. در پایان علاوه بر شستشوی قرنیه و ملتحمه، لنز تماسی پانسمانی بر روی قرنیه گذاشته شده و جراحی کراس لینک خاتمه می‌یابد. بلافاصله پس از عمل، بیمار در پشت اسلیت‌لمپ معاینه می‌شود. کدورتی منتشر در منطقه تابش UV و در استرومای قدامی مشاهده می‌شود که یافته‌ای قابل انتظار می‌باشد. درد پس از کراس لینک، شدید است و پس از عمل، داروی تسکین دهنده درد خوراکی و قطره آنتی‌بیوتیک تجویز می‌گردد. بیمار روزانه تا ترمیم کامل اپیتلیوم معاینه می‌شود و در پایان، لنز تماسی پانسمانی برداشته می‌شود<sup>۱۶</sup>. در مورد تجویز قطره استروئید پس از کراس لینک اتفاق نظر وجود ندارد. استدلال مخالفین، تجویز استروئید در جهت نقض اصول اتصال متقاطع فیبریل‌های کلاژن در کراس لینک می‌باشد. به عبارتی تجویز استروئید می‌تواند از نظر تئوری تاثیر کراس لینک را کاهش دهد. از طرف دیگر در مواردی مانند التهاب ایجاد شده در استروما و یا انفیلتراسیون غیرعفونی پس از کراس لینک، نیاز به تجویز استروئید الزامی است. آنچه مشخص است با توجه به عوارض استروئیدها و به خصوص در موارد کراس لینک کلاژن، طول درمان با این قطره‌ها باید در حداقل زمان ممکن باشد. نویسندگان مقاله قطره استروئید را حداکثر به مدت دو هفته ادامه داده و سپس قطع می‌کنند.

### کراس لینک کلاژن بدون اپیتلیوم (Epi-Off CXL)

در پروتکل انجام کراس لینک به روش Dresden، برداشتن

### کراس لینک کلاژن با اپیتلیوم در مقایسه با بدون اپیتلیوم (Epi-Off vs Epi-on CXL)

در مطالعات متعددی دو روش انجام کراس لینک با حفظ اپیتلیوم و برداشتن آن مقایسه شده است. نتایج حاصله از این مطالعات متناقض بوده‌اند. در مطالعه Nawaz<sup>۲۱</sup> بر روی ۴۰ چشم (۲۰ چشم با اپیتلیوم و ۲۰ چشم بدون اپیتلیوم) که با ریپوفلاوین مشابه و ۰/۱ درصد انجام گردید، نتایج مشابهی در جلوگیری از پیشرفت کراتوکونوس حاصل شد. دید نهایی، مقادیر کراتومتری و اندازه‌های بیومتریک قرنیه در دو گروه یکسان بودند. از نظر مقایسه عوارض، کدورت استروما در ۱۰ درصد چشم‌هایی که اپیتلیوم برداشته شده بود، رخ داد که طی ۳ تا ۱۲ ماه کاهش یافت.

Gadefrooij<sup>۲۲</sup> در مطالعه دیگری که شامل ۶۱ چشم بود (۲۶ با اپیتلیوم و ۳۵ بدون اپیتلیوم) نشان داد کراس لینک در گروه بدون اپیتلیوم در پیشگیری از پیشرفت کراتوکونوس مؤثر بوده و بهتر مقادیر حداکثری قرنیه دارای کراتوکونوس را مسطح (Flat) کرده است.

ویسکوزیته بالای دکستران مانع نفوذ ریپوفلاوین از میان اپیتلیوم می‌شود. بنابراین عده‌ای کاهش غلظت دکستران به ۱۵ درصد را مطرح نمودند تا شاید بتوان قدرت نفوذ و تاثیر ریپوفلاوین را افزایش داد.

در مقابل در دو مطالعه دیگر که از دکستران ۱۵ درصد استفاده کرده بودند وقتی اپیتلیوم برداشته شد، بهتر از پیشرفت جلوگیری گردید. در مطالعه Cerman<sup>۲۳</sup> (۶۰ چشم) در موارد بدون اپیتلیوم، ۹۷ درصد و با اپیتلیوم، ۸۰ درصد از پیشرفت کراتوکونوس متوقف شده بود. Kocak<sup>۱۹</sup> نیز در مطالعه مشابه دیگری بر روی ۳۶ چشم، توقف پیشرفت بهتری را در ۸۹ درصد بدون برداشتن اپیتلیوم در مقایسه با ۳۵ درصد با اپیتلیوم نشان دادند. در اکثر این مطالعات موارد کراتوکونوس که با اپیتلیوم CXL شده بودند، پیشرفت بیشتری داشتند. اما در تمامی این مطالعات سرعت بیشتر بهبودی بینایی، کاهش درد و کاهش احتمال خطر عفونت را در مواردی که اپیتلیوم حفظ شده بود اعلام کردند. در مواردی که اپیتلیوم برداشته شده بود درد پس از عمل، کدورت قرنیه، تورم گذرای قرنیه و پخش نور بیشتر آزاددهنده بود.

Akbar<sup>۲۴</sup> از غلظت ریپوفلاوین ۰/۲۵ درصد و Stojianovic<sup>۲۵</sup> از غلظت ۰/۵ درصد استفاده کردند. در مطالعه Akbar، در ۷۴ درصد از بیماران بدون اپیتلیوم و در مطالعه دوم در تمامی بیماران با و بدون اپیتلیوم، پیشرفت کراتوکونوس متوقف شده بود. در هر دو مطالعه درد کمتر، بازیابی دید سریع‌تر و مشکلات کمتر ترمیم

میکرون بودند. برای ورود به مطالعه، باید کراتوکونوس پیشرونده بود و در مدت ۲۴ ماه، یکی یا چند تغییر را به عنوان معیار پیشرفت داشت:

افزایش میزان کراتومتری پرشیب‌تر به میزان حداقل ۱ دیوپتر، افزایش سیلندر مانیفست به میزان ۱ دیوپتر، یا افزایش اکی‌والان رفراکشن مانیفست به میزان دست کم ۰/۵ دیوپتر.

در مطالعات چندمرکزی FDA در گروه درمان، اپیتلیوم برداشته شده و مطابق روش Dresden کراس لینک انجام می‌گرفت.<sup>۱۶</sup> چنانچه ضخامت قرنیه کمتر از ۴۰۰ میکرون بود از ریپوفلاوین هیپوتونیک استفاده می‌شد تا ضخامت قرنیه به ۴۰۰ میکرون برسد. در گروه درمان، قرنیه به مدت نیم ساعت تحت تابش UVA با قدرت ۳ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع قرار می‌گرفت در حالی که در گروه شاهد (دارونما) اشعه UVA تابانیده نمی‌شد.

بیماران به مدت یک سال پیگیری شدند. در گروه کراتوکونوس درمان شده، ۱/۶ دیوپتر کاهش حداکثر کراتومتری قرنیه و در گروه شاهد، حداکثر ۱ دیوپتر افزایش کراتومتری داشتند (یعنی اختلاف ۲/۶ دیوپتری). در ۶ درصد از موارد در گروه درمان، پرشیبی ۲ دیوپتر یا بیشتر افزایش داشت. در چشم‌هایی که کراتومتری ۵۵ دیوپتر یا بیشتر داشتند میزان مسطح یا flat شدن قرنیه بیشتر بود. در گروه درمان در ۲۳ درصد موارد، بهبود دو خط یا بیشتر در بهترین دید، و در ۶ درصد کاهش دید رخ داد. مهم‌ترین دلایل کاهش بینایی، پیشرفت کراتوکونوس یا تشکیل اسکار بود. بهترین دید اصلاح‌شده ۲۰/۴۰ یا کمتر از آن تنها عامل مرتبط با بهبود دید پس از یک سال بود (۵/۹ برابر بیشتر). در این مطالعه دید بدون اصلاح افزایش نشان داد که این تفاوت قابل ملاحظه نبود.<sup>۱۸</sup>

ترمیم کامل قرنیه پس از کراس لینک ممکن است تا یک سال به درازا بیانجامد. دید و کراتومتری در بسیاری از بیماران در یک ماه اول کاهش یافته و پس از آن به تدریج بهبود می‌یابد. علت طولانی بودن زمان ترمیم، کاهش تدریجی کدورت قرنیه و باز تغییر (Remodeling) اپیتلیوم قرنیه است. تغییرات دید پس از عمل و چندین ماه زمان مورد نیاز تا دریافت نتیجه نهایی باید به آگاهی بیماران رسانده شود.<sup>۱۷، ۱۸</sup>

عوارض جانبی در مطالعه FDA مورد بررسی قرار گرفت. شایع‌ترین عارضه گزارش شده، ایجاد کدورت قرنیه بود. بیشترین شدت کدورت یک ماه پس از کراس لینک بود که با گذشت زمان و حداکثر تا یک سال کاهش می‌یافت. در این مطالعه سلول‌های اندوتلیالی کاهش نیافت و در ۳ درصد موارد کراتیت عفونی رخ داد که نشان‌دهنده اهمیت بهبودی سریع‌تر نقص اپیتلیوم بود.<sup>۲۰</sup>

سانتی مترمربع) را مورد بررسی قرار داده‌اند. اگر در نهایت پروتکلی به دست آید که بدون برداشتن اپیتلیوم قرنیه، نتایج مؤثری در پیشگیری از پیشرفت کراتوکونوس داشته باشد با توجه به درد و ناراحتی کمتر، بازیابی سریعتر بینایی و عوارض کمتر رواج بیشتری خواهد یافت.<sup>۲۹</sup>

در روش دیگری که کراس لینک با اپیتلیوم انجام می‌گردد، از یونتوفرز (Iontophoresis CXL) کمک گرفته می‌شود. در این روش با به کار بردن جریان الکتریکی، مولکول‌های باردار ریوفلاوین از طریق اپیتلیوم حرکت داده می‌شوند. در بررسی‌های مقدماتی مشاهده شد که بازهم نفوذ ریوفلاوین به میزان و عمق موارد Epi-off نمی‌شود.<sup>۳۰</sup>

در کراس لینک ضربانی Pulse-illuminated اشعه ماورابنفش A یک ثانیه روشن و یک ثانیه خاموش را می‌تابانند. توضیح برای این روش آن است که چون در زمان تابش مداوم (Continuous)، اکسیژن موجود در استرومای قرنیه‌ای حاوی ریوفلاوین به سرعت کاهش می‌یابد، خاموش شدن UV-A فرصت جبران و تامین اکسیژن را ایجاد می‌کند. به نظر می‌رسد تابش نور UV-A به طور ضربانی بتواند غلظت اکسیژن را حفظ کرده و کراس لینک بهتر و عمیق‌تری انجام پذیرد.<sup>۳۱</sup>

### کراس لینک تسریع شده یا Accelerated

هدف از این روش کراس لینک، کاهش زمان تابش اشعه UV-A با افزایش قدرت تابش می‌باشد. بر اساس روش تسریع‌شده، کوتاه شدن زمان انجام روش استاندارد Dresden است که ۶۰ تا ۷۰ دقیقه به طول می‌انجامد. در تمامی این پروتکل‌ها، مجموعه انرژی تابشی به سطح قرنیه برابر  $۵/۴ \text{ J/cm}^2$  می‌باشد (به طور مثال ۱۰ دقیقه با قدرت تابشی ۹ میلی‌وات بر سانتی‌مترمربع). مطالعات اولیه بالینی نتیجه مشابهی را نسبت به روش Dresden نشان می‌دهند اگرچه کاهش حداکثری انحنا و رفاکتیو قرنیه در روش‌های همراه با کاهش زمان تابش کم‌تر می‌شوند.<sup>۳۲</sup> وجود اکسیژن کافی در استروما می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در تاثیر UV-A داشته باشد. مشخص نیست که این کاهش زمان بتواند همان میزان اتصال کووالانته را (مشابه Dresden) ایجاد کند. برخی مطالعات نیز نتایج کمتری را در مقایسه با روش‌های تسریع شده CXL نشان داده‌اند.<sup>۳۱،۳۲،۳۳</sup>

### تاثیر کراس لینک بر روی توپوگرافی قرنیه

در بسیاری از مراکز، تاثیر CXL بر روی کراتومتری بررسی شده

اپیتلیوم در مواردی که اپیتلیوم برداشته شده بود مشاهده گردید. اما در مطالعه‌ای که توسط Stojanovic<sup>۲۵</sup> با ریوفلاوین ۰/۱ درصد انجام شد، بهبودی Simk، K ماکزیمم و ابیراهی‌های رده بالا بهتر اتفاق افتاد. فرضیه وی برای این یافته، مصرف بیشتر اکسیژن در حضور غلظت بیشتر (۰/۵ درصد) ریوفلاوین در استرومای قرنیه بود که تاثیر نهایی ریوفلاوین در کراس لینک کلان را می‌کاهد.

انجام کراس لینک کلان با اپیتلیوم (Epi- On) در آمریکا off label می‌باشد.<sup>۲۶</sup> در یکی از این مطالعات Ribastat CXLO (کالیفرنیا CXL Ophthalmics) دید بیماران در حد قابل توجه بهبودی داشت که تا ۲ سال پس از کراس لینک ثابت باقی مانده بود. در روش دیگر (ناپولی ایتالیا JROS Ribocross TE) از محلول ویتامین E برای تقویت نفوذ ریوفلاوین استفاده گردید. در این مطالعه آینده‌نگر غیرتصادفی با شدت کم UV-A، ثبات قابل ملاحظه‌ای در دید، رفاکتشن و توپوگرافی قرنیه مشاهده شد.<sup>۲۷</sup> در آخرین مطالعات بالینی انجام CXL با اپیتلیوم، شرکت Avedro (ماساچوست) ترکیب جدیدی از ریوفلاوین (بنام Paracel) را همراه با اکسیژن آزمایش کرد.

مشکل دیگر Epi- On CXL، علاوه بر غلظت و نفوذ کمتر ریوفلاوین در استروما، اپیتلیوم و ریوفلاوین موجود در آن است که UVA را جذب کرده، باعث کاهش نفوذ تابش UV-A و رسیدن آن به استروما می‌گردد. بنابراین اثر کراس لینک سطحی‌تر و ناقص‌تر از زمانی است که Epi-off انجام می‌گیرد. در مطالعه‌ای نشان دادند که با افزایش انرژی تابش به حد ۴۵ میلی‌وات بر سانتی‌مترمربع، اگر میزان کل انرژی در  $۵/۴ \text{ J/cm}^2$  حفظ شود حتی با حفظ اپیتلیوم (بر اساس قانون Bunsen- Roscoe) میزان اثر کراس لینک بهبود می‌یابد. مقاله Zhang<sup>۲۸</sup> با استفاده از ریوفلاوین ۰/۲۵ درصد و UV-A با قدرت ۴۵ میلی‌وات بر سانتی‌مترمربع با تابش به صورت Pulse (یک ثانیه روشن- یک ثانیه خاموش) به مدت ۵ دقیقه و ۲۰ ثانیه به میزان کل  $۷/۲ \text{ J/cm}^2$  صورت گرفت، این روش نیز برای پیشگیری از پیشرفت کراتوکونوس موثر بود.

مقایسه دو روش CXL با حفظ اپیتلیوم یا بعد از برداشتن آن نتایج یکسانی نداشته است. نتایج غیریکسان می‌تواند به علت تفاوت در طراحی مطالعات، سن بیماران، شدت کراتوکونوس، غلظت ریوفلاوین و شدت تابش UV-A آنها باشد. در حال حاضر دلایل کافی نشان‌دهنده نتایج یکسان انجام CXL در حضور اپیتلیوم با CXL بدون اپیتلیوم موجود نیست. بسیاری از مطالعات، غلظت‌های بیشتر ریوفلاوین (حتی تا ۰/۲۵ درصد) و تابش UV طولانی‌تر (هم به صورت مداوم و یا ضربانی) و با قدرت بیشتر (تا حتی ۱۰ ژول بر

ضخامت قرنیه در قله و مرکز مردمک به حد قبل از عمل برمی گردد اما نسبت به زمان انجام CXL کمی نازک تر است (میانگین حدود ۶/۶ میکرون)<sup>۳۸</sup>.

بهبودی ضخامت قرنیه در موارد اکتازی سریع تر از کراتوکونوس می باشد. بین میزان نازکی ۳ ماه بعد از CXL با نتیجه بالینی کراس لینک ارتباطی وجود ندارد. این تغییرات در ضخامت قرنیه ممکن است به علت تغییرات آناتومی و ساختاری فیبریل های کلاژن قرنیه، فشرده شدن رشته های (فیبریل های) کلاژنی، تغییرات در هیدراتاسیون قرنیه، آپوپتوز کراتوسیت ها، تغییرات گلیکوز آمینوگلیکان ها و فرآیندهای دیگر باشد<sup>۳۹</sup>.

### تغییرات بیومکانیک قرنیه در اثر کراس لینک

جراحی کراس لینک قرنیه، روشی فتودینامیک می باشد که در اثر تاثیر UV-A بر ریپوفلاوین، رادیکال های اکسیژن آزاد می شود. هنوز به طور دقیق مشخص نشده که رادیکال های اکسیژن چگونه با رشته های کلاژن واکنش می دهند. ممکن است اکسیداسیون ماتریکس خارج سلولی قرنیه منجر به ایجاد اتصال های کووالانته جدید بین رشته های کلاژنی گردد<sup>۴۰</sup>. در آزمایشگاه، سخت شدن بافت قرنیه نشان داده شده است. یک تا دو هفته بعد از کراس لینک، خط Demarcation در عمق ۳۰۰ میکرونی قرنیه مشاهده می شود که علت اصلی آن می تواند تغییر ضریب انکساری و نشان دهنده منطقه ای از قرنیه باشد که دچار سختی Stiffness شده است. در آزمایشات Ex vivo بعد از کراس لینک قرنیه در انسان، ۳۲۹ درصد و در خوک ۷۲ درصد به میزان سختی افزوده شده است<sup>۴۱</sup>. تغییرات ساختاری که کراس لینک در قرنیه ایجاد می کند قبلاً بحث گردیده است. در مقالات مختلف به افزایش هیستریزس قرنیه، عامل مقاومت قرنیه (CRF= Corneal Resistance Factor) با دستگاه ORA: Ocular Response Analyzer اشاره شده است<sup>۴۲</sup>. در مطالعه Han<sup>۴۳</sup>، افزایش مدولوس الاستیک و کاهش مدولوس ویسکوس قرنیه با Shear wave OCE ذکر گردیده است.

در مطالعه دیگری، Salouti و همکاران<sup>۴۴</sup> بر روی ۴۸ چشم مبتلا به کراتوکونوس تغییرات بیومکانیکی قرنیه را قبل و ۴ ماه پس از کراس لینک با ORA و Corvis ST بررسی و مقایسه کردند. کراس لینک سبب تغییرات قابل ملاحظه ای در بیومکانیک قرنیه این بیماران گردید. طول اپلاناسیون دوم قرنیه (Length of ۲) Velocity of ۲) و سرعت اپلاناسیون دوم قرنیه (L۲=Applanation Velocity of ۲) تغییرات واضح داشتند که نشان دهنده سخت تر شدن (Stiffness) قرنیه بودند. در آخرین مطالعه Sedaght و

است. در مطالعات بر روی بیماران که کراتوکونوس پیشرونده داشتند، در ۱/۵ ماه اول کاهش پرسیبی در Kmax به میزان حدود ۱/۵ دیوپتر مشاهده شد. سپس در فاصله ۱ تا ۳ ماه، قرنیه حدود ۱/۸ دیوپتر مسطح (Flat) گردید. مسطح شدن قرنیه بین ماه های سوم تا یک سال بعد ادامه یافت و میانگین مسطح شدن در مطالعات ۱/۶±۴/۲ دیوپتر بود<sup>۳۳</sup>. در مطالعه آینده نگر تصادفی که در استرالیا انجام گرفت، بیماران تا سه سال بعد از کراس لینک بدون اپیتلیوم پی گیری شدند. در پایان سه سال، در چشم هایی که درمان شده بودند تغییر حدود ۱/۰۳±۰/۹۱ دیوپتر مسطح شدن در Kmax مشاهده گردید. قسمت اعظم تاثیر در Kmax در ۲ سال اول رخ داد و تغییرات سال سوم بسیار جزئی بود<sup>۳۴</sup>.

در مطالعه دیگری در ایتالیا که به صورت کوهورت آینده نگر صورت گرفت، ۶۲ چشم از ۴۷ کودک به مدت ۱۰ سال پس از کراس لینک کلاژن بدون اپیتلیوم پی گیری شدند. میزان Kmax به طور قابل ملاحظه ای در ۶ ماه اول پس از درمان (متوسط ۱/۰۷ دیوپتر) کاهش یافت که این بهبودی تا ۸ سال پی گیری قابل توجه بود<sup>۳۵</sup>. در مطالعه دیگری که تاثیر کراس لینک تسریع شده بدون اپیتلیوم در عود کراتوکونوس در پیوند قرنیه (به همان علت) در ۱۸ چشم صورت گرفته بود، سه و شش ماه و در نهایت یک سال پس از انجام، به طور متوسط ۳ دیوپتر کاهش کراتومتري Kmax و بهبود دید در ۱۳ چشم گزارش گردید<sup>۳۶</sup>.

بر اساس مطالعات موجود، تاثیر کراس لینک در افراد جوان بیشتر و عوارض در آن محدوده سنی کمتر است. در مطالعه ای خطر بروز عوارض در بیماران کمتر از ۳۵ سال، ۱ درصد و در تمامی بیماران (با هر سنی) به ۳ درصد رسید. در بیماران جوان تر با احتمال بیشتر، با پیشرفت مجدد کراتوکونوس تاثیر کراس لینک کاهش می یابد. در مطالعه Yunfei<sup>۳۷</sup>، تغییر در ۲۴ درصد از بیماران با سن کمتر از ۱۵ سال که ده سال پی گیری شده بودند مشاهده شد. بنابراین پس از انجام کراس لینک در سنین پایین تر، در ابتدا پی گیری ها هر ۶ ماه و سپس سالیانه مورد نیاز است. در موارد کراتوکونوس پیشرونده و شدید، کراس لینک تاثیر بیشتری برای مسطح کردن قرنیه ایجاد می کند.

### تاثیر بر ضخامت قرنیه

نازک ترین نقطه ضخامت قرنیه یک ماه پس از کراس لینک به طور متوسط ۲۳ میکرون کاهش می یابد. یک تا ۳ ماه و سپس ۳ تا ۶ ماه پس از CXL، به تدریج ضخامت قرنیه به طور متوسط ۲۰ میکرون افزایش پیدا می کند. در پایان یک سال بعد از CXL، اگرچه

### عوارض عفونی کراس لینک

میزان بروز کراتیت عفونی پس از کراس لینک خیلی نادر بوده و در کشورهایی که عفونت قرنیه رواج دارد به ۰/۰۰۱۷ درصد می‌رسد.<sup>۴۷</sup> احتمال دارد اشعه ماورابنفش A علاوه بر صدمه به کراتوسیت‌های قرنیه، باکتری‌ها و قارچ‌های موجود در محیط قرنیه را نیز بین ببرد که علت بروز کم عفونت باشد.<sup>۴۸</sup> علامت‌های عفونت که به صورت کراتیت می‌باشد می‌تواند در مراحل ابتدایی پس از کراس لینک رخ دهد. از طرفی برداشتن اپیتلیوم، استفاده از لنز تماسی پانسمانی و قطره‌های استروئیدی هم زمان از عواملی هستند که در مراحل ابتدایی پس از عمل، ورود میکروارگانیزم‌ها به داخل استرومای بی‌دفاع و ایجاد کراتیت را تسریع می‌کنند.<sup>۴۸</sup> در ده مقاله‌ای که بین ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۳ علت و درمان و دید نهائی بیماران پس از کراتیت عفونی را جمع‌بندی کرده بودند، شایع‌ترین عامل بیماری‌زا باکتری و در رده‌های بعد ویروس هرپس، قارچ و اکتانامیبا بودند. پسودوموناس آئروژینوزا، رایج‌ترین باکتری بود که با قطره‌های آنتی‌بیوتیکی تقویت شده درمان گردید ولی در بسیاری از موارد برای بهبود دید به پیوند قرنیه نیاز بود.<sup>۴۹</sup> عوامل بیماری‌زای ضعیف‌تر مثل اشرفیاکولی و استافیلوکوک اپیدرمیدیس نیز از دیگر عوامل باکتریال بودند که با قطره آنتی‌بیوتیک درمان شدند. کراتیت چندمیکروبی (پلی‌میکروبیال) به علت استرپتوکوک سالیواریوس و استرپتوکوک اورالیس گزارش شده اند که با درمان آنتی‌بیوتیک موضعی درمان گردیده‌اند.<sup>۵۰</sup>

دو گزارش از عود یا ایجاد کراتیت هرپسی در اثر UVA بعد از کراس لینک وجود دارد. اگر چه شیوع هرپس نادر است اما با درمان مناسب در هر دو مورد، دید قبل از عمل به دست آمد. در مورد این که آیا پیشگیری سیستمیک بر علیه ویروس مورد نیاز است یا خیر اتفاق نظر وجود ندارد.<sup>۵۱</sup> بروز کراتیت‌های قارچی در اثر فوزاریوم سولانی و میکروسپوریدیا پس از کراس لینک گزارش شده است.<sup>۵۲</sup> مشابه موارد کراتیت قارچی دیگر، فاصله زمانی شروع علائم نسبت به عوامل بیماری‌زای دیگر طولانی‌تر است. هر دو مورد کراتیت با درمان موضعی کنترل شد ولی به علت دید کم در پایان، پیوند قرنیه مورد نیاز بود. تنها مورد وقوع اکتانامیبا پنج روز پس از کراس لینک گزارش شده که منجر به ذوب قرنیه گردید. در این بیمار با وجود درمان دارویی با هگزامیدین و پلی‌هگزامتیلن پیگوانید (PHMB)، قرنیه سوراخ شد و در نهایت پیوند قرنیه درمانی انجام پذیرفت.<sup>۵۳</sup>

همکاران<sup>۴۵</sup>، تغییرات بیومکانیک قرنیه ۱۸ بیمار مبتلا به کراتوکونوس را ۴ سال پس از کراس لینک با Corvis ST و ORA بررسی کردند. در این مطالعه معیارهای جدید Corvis ST در نظر گرفته شد (Integrated Inverse Radius and Radius of Highest Concavity) که نشان‌دهنده افزایش سختی قرنیه بودند. اما معیارهای CH و CRF که با ORA اندازه‌گیری شده بود، تغییر چندانی نشان ندادند. از طرف دیگر سختی قرنیه در اپلاناسیون نخست، Ambrasio Relational thickness to horizontal Profile و Corvis Biomechanical Index نسبت دامنه تغییر شکل دادن قرنیه، تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشتند.

### تأثیر کراس لینک بر دید

در مرحله ۳ آزمون‌های بالینی انجام شده در آمریکا بر روی نتایج کراس لینک در کراتوکونوس پیش‌رونده، بهترین دید اصلاح‌شده یک سال بعد نسبت به قبل از کراس لینک به میزان ۵/۷ حرف بهبود یافت. در گروه شاهد، این بهبودی ۲/۲ حرف و اختلاف تغییر در بهترین دید اصلاح‌شده، ۳/۵ حرف بود که این تغییر قابل توجه بود ( $P \leq 0.01$ ). تمامی معیارهای اندازه‌گیری‌شده در مدت یک سال در گروه CXL، بهبود یافت. این معیارها که سوپزکتیو بوده و با پرسشنامه بررسی شدند، شامل نورگریزی (فتوفوبی)، مشکلات رانندگی در شب، مشکل خواندن، دوبینی، نوسان دید، احساس جسم خارجی، پخش نور، هاله‌بینی، پراکنش نور، خشکی و درد بود که تغییر در ۶ معیار اول قابل توجه بود.<sup>۲۰</sup>

در مطالعه‌ای که در ایتالیا با پی‌گیری ده ساله صورت گرفت، بهترین دید اصلاح‌شده بهبود یافت و تا پایان ده سال نیز تأثیر آن باقی ماند. مقادیر کوما ظرف یک ماه اول بهبود یافت و تا پایان ۱۰ سال اثر آن باقی بود.<sup>۲۵</sup>

در بسیاری از بیماران، کاهش دید گذرای پس از کراس لینک، ناشی از کدورت می‌باشد که دید با گذشت زمان به تدریج بهبود می‌یابد و حتی با لنز تماسی نیمه سخت- که درمان انتخابی این بیماران است - نیز دید اصلاح شده‌ای در حد دید قبل از عمل را به دست می‌آوردند.<sup>۴۶</sup>

### عوارض کراس لینک

عوارض CXL می‌تواند به طور زودهنگام یا دیررس اتفاق بیفتد. این عوارض می‌توانند به دو گروه عمده عفونی و غیرعفونی تقسیم شوند.



## عوارض غیر عفونی

### ۱- کدورت قرنیه (کدورت عمیق در استروما)<sup>۵۴</sup>

کدورت ناشی از CXL به علت پاسخ ترمیمی ثانویه استروما به تاثیر UV-A با ریوفلاوین می‌باشد. تمامی کدورت در لایه‌های قدامی استروما دیده می‌شود که به صورت ذرات ریز است و با کدورت شبکه‌ای شکل زیر اپیتلیوم در اثر کراتکتومی فتوریفرکتیو (PRK) متفاوت است. در اغلب موارد کدورت ناشی از CXL تا یک سال بهبود می‌یابد. در حدود ۹ درصد از موارد، این کدورت شدیدتر بوده و برای زمان طولانی‌تری باقی می‌ماند و بر حدت دید تاثیر قابل ملاحظه‌ای می‌گذارد. پاتوفیزیولوژی تشکیل این کدورت احتمالاً تولید رشته‌های کلان‌های تغییر ساختار یافته از کراتوسیت‌های فعال شده است که به استرومای قدامی مهاجرت کرده‌اند. این فرآیند چند هفته پس از آن که کراتوسیت‌ها در اثر CXL از بین رفتند آغاز شده و تا ۶ ماه کامل می‌شود.<sup>۵۵</sup> مکانیزم‌های دیگر چون واکنش‌های کلان با پروتئوگلیکان و هیدراته شدن گلیکوزآمینوگلیکان نیز ممکن است مؤثر باشند.<sup>۵۶</sup>

از عوامل خطر برای ایجاد کدورت می‌توان نازکی ضخامت قرنیه و بالا بودن میانگین کراتومتري قبل از CXL را نام برد.<sup>۵۷</sup> از دیگر عوامل احتمالی، سن بالاتر بیمار و نمای رتیکولراستروما در کانفواسکن می‌باشد. عواملی که حین عمل می‌توانند سبب افزایش آپوپتوز کراتوسیت‌ها شوند غلظت پایین ریوفلاوین در استروما، افزایش زمان تابش UV-A و زمان کوتاه‌تر مصرف ریوفلاوین در قرنیه می‌باشند.<sup>۵۸،۵۹</sup>

Kato، سه بیماری که دچار کدورت عمقی استرومای قرنیه بعد از CXL شده بودند را معرفی کرد که با کدورت‌های گذرا و یا دائم رایج که پس از CXL مشاهده می‌شوند، متفاوت بود. این بیماران دو ماه پس از CXL کدورت لایه‌های عمقی استروما داشتند که ۳ تا ۶ ماه بعد شدت یافت و با مسطح کردن قرنیه همراه بود. نویسندگان عقیده داشتند که این کدورت‌های عمقی یکی از انواع تشدید یافته خط Demarcation می‌باشند. در تمامی این موارد، انفیلتراسیون ملایم و منتشر قرنیه همراه با واکنش اتاق قدامی و پرخونی اجسام مژگانی بودند که نشان‌دهنده فرآیند التهابی شدید در اتاق قدامی چشم بود.<sup>۶۰</sup>

### ۲- مسطح شدن بیش از حد انحناى قرنيه (Excessive flattening)

کراتومتري اکثر قرنیه‌ها تا دو سال پس از انجام CXL ثابت می‌کند که قرنیه نسبت به قبل مسطح‌تر شده است. به ندرت

ممکن است تا ۵ دیوپتر مسطح شدن (بیش از حد مورد انتظار) در حداکثر انحناى قرنيه رخ دهد که قابل پیش‌بینی بودن CXL را از بین می‌برد. توضیحی که برای این پدیده وجود دارد، مخلوطی است از تغییر خاصیت الاستیکی بافت قرنیه، عمق کراس لینک انجام شده و موقعیت اکتازی به مرکز قرنیه<sup>۶۱</sup>. Santhiago و همکاران<sup>۶۲</sup> دو مورد گزارش کردند که مسطح شدن قرنیه به میزان ۷ و ۱۴ دیوپتر یک سال پس از CXL اتفاق افتاد. یکی از بیماران، کودکی ۱۴ ساله بود. این یافته هماهنگ با نتایج دیگر مطالعات است که نشان داده‌اند، قدرت مسطح ساختن CXL در کودکان بیش از گروه‌های سنی دیگر است و در بین روش‌های مختلف، انجام کراس لینک روش استاندارد نسبت به تسریع شده و روش با اپیتلیوم دارای بهترین نتیجه در کودکان بوده است<sup>۶۳</sup>. از طرف دیگر این یافته‌ها اهمیت پیگیری‌های نزدیک به هم در بیماران جوانی که CXL شده‌اند، را نشان می‌دهد.<sup>۶۴</sup>

### ۳- انفیلتراسیون‌های استریل در محیط قرنيه

ممکن است در فاصله کوتاهی پس از CXL انفیلتراسیون‌های استریل در محیط قرنيه مشاهده شود. Ghanem و همکاران<sup>۶۵</sup> در بررسی ۷۲۰ مورد CXL انجام شده، وقوع این ضایعات را ۷ مورد (۰/۹۷ درصد) گزارش کرد. این انفیلتراسیون‌ها شکل گرد داشته و در استرومای قدامی در محیط قرنيه بین منطقه درمان شده و سالم و در اغلب موارد در چند روز اول بعد از CXL ظاهر می‌شوند. در یک بیمار، این ضایعات در هفته دوم و همراه با نقص اپیتلیال در روی آن مشاهده شد. تمامی این موارد به قطره‌های استروئیدی پاسخ درمانی مناسب می‌دهند. فرضیه نویسندگان مقاله آن است که این انفیلتراسیون محیطی بعد از CXL می‌تواند به علت واکنش ایمنی به آنتی‌ژن‌های غیر خودی ایجاد شده در سطح قرنيه روی دهد. فتوتوکسیسیته به نور ماورابنفش و استفاده از قطره‌های موضعی ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAID) یا آنتی بیوتیک‌ها می‌توانند شروع‌کننده این واکنش باشند.<sup>۶۶</sup>

تشخیص‌های افتراقی مهم عبارتند از کراتیت‌های عفونی و Marginal Catarrhal Infiltrates که ناشی از واکنش ایمنی به استافیلوکوک می‌باشد.

### ۴- صدمه به اندوتلیوم و آندوتلیت قرنيه

عامل مهم در ایجاد آندوتلیت غیر عفونی می‌تواند صدمه مستقیم UV-A به اندوتلیوم قرنیه باشد<sup>۶۷</sup>. اگر حین CXL، در زمان تابش UV قرنيه نازک باشد صدمه به اندوتلیوم رخ خواهد داد. در موارد نازکی

پیشگیری نماید، دارای اهمیت است.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵، مطرح گردید اگر کراس لینک بتواند از پیشرفت کراتوکونوس در مراحل ابتدایی، که هنوز بیمار دید خوبی دارد، جلوگیری نماید، کیفیت زندگی بیمار با افراد عادی برابری خواهد کرد. کراس لینک باعث می‌شود به ازای هر سال، از حدود ۳۰ هزار پوند هزینه جراحی و مراقبت‌هایی پس از آن تا زمانی که بیمار قادر به انجام کار شود جلوگیری شود.<sup>۷۱</sup>

Sandvik<sup>۷۲</sup> در مطالعه ۶ ساله‌ای که پس از انجام CXL در نروژ انجام داد، کاهش ۲۵ درصد از موارد انجام پیوند قرنیه در بیماران مبتلا به کراتوکونوس را نسبت به یک سال قبل از رواج CXL مشخص نمود.<sup>۷۲</sup>

همچنین Godefrooiz با استفاده از مدل نوع مارکف (Marcov) براساس یافته‌های مرکز پیوند قرنیه‌ای که سالیانه ۸۰۰۰ بیمار-سال اطلاعات را شامل می‌گردد و از طرف دیگر نرخ شکست پیوند از ثبت موارد پیوند استرالیا، مطالعه‌ای انجام داد. در این مطالعه، دوره‌های ۱۰ ساله برای بیماران CXL شده در نظر گرفته شد که ممکن بود تحت پیوند قرنیه قرار گیرد. در دوره مطالعه، سالیانه ۵۴،۳۸۴ پوند و اگر مطالعه تا پایان عمرشان در نظر گرفته می‌شد به ازاء هر سال بعد ۱۰،۱۴۹ پوند هزینه در برداشت. یعنی طولانی‌تر کردن زمان مطالعه، تاثیر بیشتری را از نظر ایجاد مخارج نشان خواهد داد.<sup>۷۳</sup> اگر تاثیر کراس لینک بیش از پانزده سال به طول انجامد، در هلند اختلاف این هزینه بیش از یک برابر Gross Domestic Product (GDP) و از نظر اقتصادی بسیار به صرفه است. مطالعات دیگری نیز برای سیاست‌گذاری تصمیم‌گیرندگان و شرکت‌های بیمه صورت گرفته است. بیشتر مطالعات به صرفه بودن کراس لینک را کمتر از میزان واقعی در نظر می‌گیرند. علت این امر آن است که این جراحی غیر از موارد کراتوکونوس، در موارد اکتازی پس از لیزیک و دژنراسانس مارژینال پلوسید نیز انجام شده و این موارد، با ارزش اقتصادی کراس لینک در کراتوکونوس درهم آمیخته می‌شود.<sup>۷۴</sup>

### نقش اکسیژن در کراس لینک

در فرایندهای تسریع‌شده، اکسیژن در دسترس به سرعت کاهش می‌یابد و این امکان وجود دارد که تخلیه شدن سریع اکسیژن، مانع از ایجاد گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن در استرومای قرنیه شده و در ادامه مانع از واکنش فوتوکمیکال موثر می‌گردد. Richoz و همکاران<sup>۷۵</sup>، در یک مطالعه تجربی نشان داده‌اند فرآیند CXL در قرنیه‌های خوک با شدت  $9 \text{ mW/cm}^2$  در محیط با اکسیژن

زیاد قرنیه ممکن است واکنش التهابی اندوتلیوم به ریپوفلاوین اتفاق بیفتد.<sup>۶۸</sup> عوامل احتمالی دیگر می‌توانند: تابش انرژی بیشتر به قرنیه به علت تنظیم (فوکوس) نادرست UV-A، کالیبراسیون نادرست دستگاه، انجام ندادن پاک‌متری حین کراس لینک (و دوباره نازک شدن قرنیه)، هیدروپس حاد و یا وجود دیستروفی اندوتلیال فوکس قبل از درمان باشند.<sup>۶۹</sup> به ندرت (در یک مطالعه ۲/۹ درصد از موارد) ممکن است ادم قرنیه پایداری رخ دهد که با درمان‌های دارویی پاسخ نداده و در نهایت برای اصلاح دید نیاز به پیوند قرنیه وجود داشته است. اسپکولار میکروسکوپی همان چشم قابل انجام نبوده ولی در طرف مقابل سلول‌های آندوتلیوم طبیعی بوده‌اند. بازهم احتمالاً مهم‌ترین علت این عارضه، نازکی قرنیه بوده است.<sup>۷۰</sup> هم‌زمان با ادم قرنیه ممکن است رگ‌زایی (واسکولاریزاسیون) قرنیه، اوویت، پراکنده شدن رنگدانه (پیگمان) و آتروفی عنبیه مشاهده شود.

کراس لینک می‌تواند عفونت‌های ویروسی قبلی مانند هرپس سیمپلکس، زوستر و یا سیتومگالوویروس را دوباره فعال کند که محرک پاسخ ایمنی میزبان شوند. این فرآیند التهابی که از اندوتلیوم آغاز می‌شود، سبب صدمات اندوتلیوم، اوویت و تورم قرنیه می‌گردد.

### ۵- ملاحظات جانبی کراس لینک قرنیه

پیوند قرنیه، عمل جراحی است که به بسیاری از امکانات بیمارستانی نیاز دارد. از تهیه قرنیه اهداکننده، محلول‌های نگهداری آن، وسایل جراحی ویژه و گران‌قیمت و زمانی که اتاق عمل اشغال می‌شود گرفته تا مهارت جراحان خاص، پیگیری‌های منظم و پی‌درپی و درمانگاه‌های مجهز تا موجود بودن و استفاده از دستگاه‌های مخصوص معاینه (مانند اسلیت‌لمپ، توپوگرافی، اسپکولار میکروسکوپی) مورد نیاز خواهند بود. بیماری که پیوند قرنیه شده است، باید با فواصل نزدیک از نظر بروز دفع پیوند و درمان آن در صورت وقوع، برداشتن بخیه‌ها و عوارض مربوط به آن‌ها، کنترل فشار چشم و تجویز عینک بعد از رفاکشن‌های مورد لزوم پیگیری شود. در صورتی که میزان آستیگماتیسم بالا باشد، جراحی‌های تکمیلی و یا اگر دفع پیوند سبب شکست آن شود، پیوند مجدد با عوارض خاص خود را به دنبال خواهد داشت. از طرفی بیماران مبتلا به کراتوکونوس پیشرونده، بیشتر جوان بوده و در صورتی که دید غیرقابل اصلاح با عینک و لنز تماسی داشته باشند از نظر کارایی دچار اختلال و ضعف بینایی خواهند بود. کراس لینک قرنیه از آن جهت که می‌تواند از این عوارض و عواقب

مشخص شده ولی در مورد کراتیت های آمیبی و قارچی هنوز نیاز به ارزیابی های بیشتر و در مورد کراتیت های هرپسی ممنوع است.<sup>۷۹،۸۰</sup>

### نتیجه گیری

در همه مقالات، کراتوکونوس به عنوان بیماری غیرالتهابی و پیشرونده قرنیه تعریف می شود. شروع این بیماری، بیشتر در دهه سوم زندگی است که دهه فعال زندگی می باشد. با پیشرفت کراتوکونوس، تاری دید ایجاد شده با عینک نیز به طور کامل اصلاح نمی شود. از طرف دیگر لنزهای اصلاح کننده دید در این بیماران سخت و یا مخلوطی از نرم و سخت بوده و نگهداری آن با مشاغل پرتحرک مشکل آفرین است. پیوند قرنیه به عنوان درمان نهایی در نظر گرفته می شود که مشکلات خاص خود را خواهد داشت.

کراس لینک قرنیه، اولین روش اثبات شده ای است که پیشرفت کراتوکونوس را محدود کرده و از نیاز برای انجام پیوند قرنیه خواهد کاست. هزینه CXL به صورت قابل ملاحظه ای از هزینه های درمانی کراتوکونوس پیشرفته ای که نیاز به پیوند قرنیه پیدا می کند، کمتر است. هم چنین خطرات این روش به مراتب از خطرات پیوند قرنیه کمتر است.

روش های مختلفی از نظر نحوه انجام، حفظ یا برداشتن اپیتلیوم یا تغییرات در مشخصات (انرژی و زمان تابش) نور ماوراء بنفش و ترکیبات ریبولوین در حال انجام می باشد. این تغییرات جهت بهبود بخشیدن به ایمنی و افزایش تاثیر این روش ایجاد شده اند.

کم، تاثیر چندانی نداشته و بیومکانیک قرنیه مانند قرنیه درمان نشده است. این نتیجه باعث بروز نگرانی در مورد روش Accelerated شد.

در مطالعه ای که توسط Hill و همکاران<sup>۷۶</sup> به صورت Exvivo بر روی قرنیه خوک صورت گرفت، در محیطی با اکسیژن بالا، منجر به افزایش اکسیژن استروما تا ۵ برابر گردید و اثر CXL به شکل معنی داری بیشتر شد.

### نقش کراس لینکینگ به عنوان درمان اختلالات انکساری

از روش Topography-guided Crosslinking می توان برای بهبود بیومکانیک و مشکلات انکساری بهره گرفت. در مطالعه William Dupps<sup>۷۷</sup>، مشاهده گردید که این روش، هم باعث بهبود بیومکانیک قرنیه می شود و هم ابیراهی های (ابیریشن های) قرنیه را کاهش داده و سبب بهبود مشکلات انکساری می گردد. هم چنین در مطالعه Matthias Elling<sup>۷۸</sup>، مسطح شدن قرنیه به میزان دو برابر، افزایش نظم سطحی (رگولاریتی) قرنیه، تسریع ترمیم اپی تلیوم و در نهایت بهبود مشکلات انکساری مشاهده شد.

### نقش کراس لینک در درمان عفونت های قرنیه (PACK CXL)

CXL هم اثرات ضد میکروبی دارد و هم باعث تحکیم اتصال (کراس لینک) بین رشته های کلاژن و افزایش مقاومت در برابر آنزیم های پروتولیتیک می شود.

این تاثیر در بررسی های مختلف در مورد کراتیت های باکترال

### منابع

1. Nakagawa T, Maeda N, Kosaki R, et al. Higher-order aberrations due to the posterior corneal surface in patients with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2660-2665.
2. Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneur E, et al. The genetic and environmental factors for keratoconus. *Biomed Res Int* 2015; article ID:795738.
3. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MDP. Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: relevance in keratoconus. *Clin Exp Optom* 2013;96:214-218.
4. Ziaei H, Jafarinasab MR, Javadi MA, et al. Prevalence of Keratoconus in Yazd Province. *Arch Iran Med* 2011;14:220.
5. Nakagawa T, Maeda N, Kosaki R, et al. Higher-order aberrations due to the posterior corneal surface in patients with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2660-2665.
6. Javadi MA, Motlagh BF, Jafarinasab MR, et al. Outcomes of penetrating keratoplasty in keratoconus. *Cornea* 2005;24:941-946.
7. Beshtawi IM, O'Donnell C, Radhakrishnan H. Biomechanical properties of corneal tissue after ultraviolet-A-riboflavin crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2013;39:451-462.
8. Knox Cartwright NE, Tyrer JR, Marshall J. Age-related differences in the elasticity of the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:4324-4329.
9. Kennedy C, Bastiaens MT, Bajdik CD, et al. Leiden Skin Cancer Study. Effect of smoking and sun on the aging skin. *J Invest Dermatol* 2003;120:548-554.
10. Li X, Rabinowitz YS, Tang YG, et al. Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3791-3795.
11. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 1998;66:97-103.
12. Huang R, Choe E, Min DB. Kinetics for singlet oxygen formation by riboflavin photosensitization and the

- reaction between riboflavin and singlet oxygen. *J Food Sci* 2004;69:C726-C732.
13. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003;135:620-627.
  14. Rubinfeld RS, Caruso C, Ostacolo C. Corneal cross-linking: the science beyond the myths and misconceptions. *Cornea* 2019.
  15. Mohammadpour M, Masoumi A, Mirghorbani M, et al. Updates on corneal collagen cross-linking: indications, techniques and clinical outcomes. *J Curr Ophthalmol* 2017;29:235-247.
  16. Hersh PS, Stulting RD, Muller D, et al. United States Crosslinking Study Group. United States multicenter clinical trial of corneal collagen crosslinking for keratoconus treatment. *Ophthalmology* 2017;124:1259-1270.
  17. Price MO, Feng MT, Price FW Jr. Patient satisfaction with epithelium-off corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2018; 44:323-328.
  18. Stojanovic A, Zhou W, Utheim TP. Corneal collagen cross-linking with and without epithelial removal: a contralateral study with 0.5% hypotonic riboflavin solution. *Biomed Res Int*. 2014; article ID:619398. doi: 10.1155/2014/619398.
  19. Kocak I, Aydin A, Kaya F, Koc H. Comparison of transepithelial corneal collagen crosslinking with epithelium-off crosslinking in progressive keratoconus. *J Fr Ophthalmol*. 2014; 37:371-376.
  20. Beckman, K A.; Gupta, P K.; Farid, M; Berdahl, John P.; Yeu, E; Ayres, B; Chan, C; Gomes, J, PhD; Holland, EJ; Kim, T; Starr, C; Mah, F The ASCRS Cornea Clinical Committee; Corneal crosslinking: Current protocols and clinical approach, *J Cataract & Refr Surg*: 2019;45:11:1670-79.
  21. Nawaz S, Gupta S, Gogia V, Sasikala N, Panda A. Trans-epithelial versus conventional corneal collagen crosslinking: a randomized trial in keratoconus. *Oman J Ophthalmol*. 2015; 8:9-13.
  22. Godefrooij DA, El Kandoussi M, Soeters N, Wisse RPL. Higher order optical aberrations and visual acuity in a randomized controlled trial comparing transepithelial versus epithelium-off corneal crosslinking for progressive keratoconus. *Clin Ophthalmol* 2017; 11:1931-1936.
  23. Çerman E, Toker E, Ozarslan Ozcan D. Transepithelial versus epithelium-off crosslinking in adults with progressive keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 2015;41:1416-1425.
  24. Akbar B, Intisar-ul-Haq R, Ishaq M, Fawad A, Arzoo S, Siddique K. Comparison of transepithelial corneal crosslinking with epithelium-off crosslinking (epithelium-off CXL) in adult Pakistani population with progressive keratoconus. *Taiwan J Ophthalmol* 2017; 7:185-190.
  25. Stojanovic A, Chen X, Jin N, Zhang T, Stojanovic F, Raeder S, Utheim TP. Safety and efficacy of epithelium-on corneal collagen cross-linking using a multifactorial approach to achieve proper stromal riboflavin saturation. *J Ophthalmol*. 2012; article ID:4984 35.
  26. Stulting RD, Trattler WB, Woolfson JM, Rubinfeld RS. Corneal crosslinking without epithelial removal. *J Cataract Refract Surg* 2018; 44:1363-1370.
  27. Caruso C, Ostacolo C, Epstein RL, Barbaro G, Troisi S, Capobianco D. Transepithelial corneal crosslinking with vitamin e-enhanced riboflavin solution and abbreviated, low-dose UV-A. *Cornea*. 2016; 35:145-150.
  28. Zhang X, Sun L, Chen Y, Li M, Tian M, Zhou X. One-year outcomes of pachymetry and epithelium thicknesses after accelerated (45 mW/cm<sup>2</sup>) transepithelial corneal collagen cross-linking for keratoconus patients. *Sci Rep*. 2016; 6:32692.
  29. Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, Mrochen M. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54:1176-1180.
  30. Cosimo Mazzotta, Simone Alex Bagaglia, Arianna Sgheri, Alessandro Di Maggio, Mario Fruschelli, Andrea Romani, Riccardo Vinciguerra, Paolo Vinciguerra, Gian Marco Tosi; Iontophoresis Corneal Cross-linking With Enhanced Fluence and Pulsed UV-A Light: 3-Year Clinical Results: *J Refract Surg*: 2020;36(5):286-292.
  31. Mazzotta C, Traversi C, Paradiso AL, Latronico ME, Rechichi M. Pulsed light accelerated crosslinking versus continuous light accelerated crosslinking: one-year results. *J Ophthalmol*. 2014; article ID:604731
  32. Shen Y, Jian W, Sun L, Li M, Han T, Son J, Zhou X. One-year follow-up of changes in corneal densitometry after accelerated (45 mW/cm<sup>2</sup>) transepithelial corneal collagen cross-linking for keratoconus: a retrospective study. *Cornea*. 2016; 35:1434-1440.
  33. Mastropasqua L. Collagen cross-linking: when and how? A review of the state of the art of the technique and new perspectives. *Eye Vis (Lond)*. 2015; 2:19.
  34. Hersh PS, Stulting RD, Muller D, Durrie DS, Rajpal RK; United States Crosslinking Study Group. United States multicenter clinical trial of corneal collagen crosslinking for keratoconus treatment. *Ophthalmology*. 2017; 124:1259-1270
  35. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FMA, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus; three-year results. *Ophthalmology*. 2014; 121:812-821.
  36. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Bagaglia S, Caporossi O, Villano A, Caporossi A. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet A light for pediatric keratoconus: ten-year results. *Cornea*. 2018; 37:560-566.
  37. Emilio P, Grazia C, Adriano F, Erika B, Nicola G, Alessandra De G, Giorgio M; Topographic and

- Biomechanical Changes after Application of Corneal Cross-Linking in Recurrent Keratoconus: Int. J. Environ. Res. Public Health 2019, 16, 3872;
38. Yunfei H, Yanyun X, Wei Z: Thinner corneas appear to have more striking effects of Corneal Collagen Crosslinking in patients with Progressive Keratoconus: J of Ophthalmology:2017, Article ID 6490915 , open access
  39. Greenstein SA, Shah VP, Fry KL, Hersh PS; Corneal thickness changes after Corneal Collagen Crosslinking for Keratoconus and Corneal Ectasia: One year results: J Cat Ref Surg: Apr;37(4): 691-670
  40. Shah VP, Fry KL, Greenstein SA, Hersh PS: Natural History of Corneal thickness after Corneal Collagen Crosslinking: (ARVO Meeting Abstract April 2010), Invest Ophth & Vis Sci: April 2010(51): 4974
  41. Sabine K, Hafezi F: Corneal Biomechanics: A Review; Ophth & Physiol Optics: 2017: 37(3): 240-252
  42. Wollensak G, Sproel E, Seilor T; Stress-Strain measurements of Human and Porcine corneas after Riboflavin-Ultraviolet induced Crosslinking: J Cataract Refract Surg: 2003(29): 1780-1785
  43. Viswanathan, D., Kumar, N. L., Males, J. J., and Graham, S. L. (2015). Relationship of structural characteristics to biomechanical profile in normal, keratoconic, and crosslinked eyes. Cornea 34, 791-796
  44. Han, Z., Li, J., Singh, M., Wu, C., Liu, C. H., Raghunathan, R., et al. (2017). Optical coherence elastography assessment of corneal viscoelasticity with a modified Rayleigh-Lamb wave model. J. Mech. Behav. Biomed. Mater. 66, 87-94
  45. Salouti R, Khalili MR, Zamani M, Ghoreyshi M, Nowroozzadeh MH: Assessment of the changes in Corneal Biomechanical Properties After Collagen Crosslinking in Patients with Keratoconus: J Curr ophthalmol: 2019;31(3): 262-267
  46. Sedaghat MR, Momeni-Moghaddam H, Ambrósio R Jr, Roberts CJ, Yekta AA, Danesh Z, Reisdorf S, Khabazkhoob M, Heidari HR, Sadeghi J. : Long-term Evaluation of Corneal Biomechanical Properties after Corneal Cross-linking for Keratoconus: A 4-year Longitudinal study; J Refract Surg. 2018 Dec 1;34(12):
  47. Greenstein SA, Fry KL, Bhatt J, Hersh PS. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: Scheimpflug and biomicroscopic analysis. J Cataract Refract Surg 2010;36:2105-14
  48. Shetty R, Kaweri L, Nuijts RMMA, Nagaraja H, Arora V, Kumar RS. Profile of microbial keratitis after corneal cross-linking. Biomed Res Int. 2014; article ID:340509.
  49. Abbouda A, Abicca I, Alió JL. Infectious keratitis following corneal crosslinking: a systematic review of reported cases: management, visual outcome, and treatment proposed. Sem Ophthalmol. 2016; 31:485-491
  50. Pollhammer M, Cursiefen C. Bacterial keratitis early after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A. J Cataract Refract Surg 2009; 35:588-589
  51. Zamora KV, Males JJ. Polymicrobial keratitis after a collagen cross-linking procedure with postoperative use of a contact lens: a case report. Cornea. 2009; 28:474-476
  52. Yuksel N, Bilgihan K, Hondur AM. Herpetic keratitis after corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A for progressive keratoconus. Int Ophthalmol. 2011; 31:513-515
  53. Garcia-Delpech S, Díaz-Llopis M, Udaondo P, Salom D. Fusarium keratitis 3 weeks after healed corneal crosslinking. J Refract Surg. 2010; 26:994-995
  54. Rama P, Di Matteo F, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A. Acanthamoeba keratitis with perforation after corneal crosslinking and bandage contact lens use. J Cataract Refract Surg. 2009; 35:788-791
  55. Dhawan S, Rao K, Natrajan S. Complications of corneal collagen cross-linking. J Ophthalmol. 2011; article ID:869015
  56. Pecorella I, Appolloni R, Tiezzi A, Plateroti P, Plateroti R. Histological findings in a failed corneal riboflavin-UVA collagen cross-linking performed for progressive keratoconus. Cornea. 2013; 32:191-195
  57. Greenstein SA, Fry KL, Bhatt J, Hersh PS. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: Scheimpflug and biomicroscopic analysis. J Cataract Refract Surg 2010; 36:2105-2114
  58. Lim LS, Beuerman R, Lim L, Tan DTH. Late-onset deep stromal scarring after riboflavin-UV-A corneal collagen cross-linking for mild keratoconus. Arch Ophthalmol. 2011; 129:360-362
  59. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus. J Refract Surg. 2009; 25:S824-S828
  60. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi O, Bovone C, Sparano MC, Balestrazzi A, Caporossi A. Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen crosslinking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. Am J Ophthalmol. 2008; 146:527-533
  61. Kato N, Konomi K, Saiki M, Nigishi K, Takeuchi M, Shimazaki J, Tsubota K. Deep stromal opacity after corneal cross-linking. Cornea. 2013; 32:895-898
  62. Koller T, Pajic B, Vinciguerra P, Seiler T. Flattening of the cornea after collagen crosslinking for keratoconus. J Cataract Refract Surg 2011; 37:1488-1492
  63. Santhiago MR, Giacomini NT, Medeiros CS, Smadja D, Bechara SJ. Intense early flattening after corneal collagen cross-linking. J Refract Surg. 2015; 31:419-422
  64. Iqbal M, Elmassyry A, Saad H, Am Gad A, Ibrahim O, Hamed N, Saeed A, S Khalil A, Tawfik M, Said A, Amer I, Nooreldin A, Said O, Reffat M, Anwar S, Badawi A.; Standard Cross-linking versus Accelerated and Transepithelial cross-linking for treatment of Pediatric Keratoconus: A 2-year comparative study;

- Acta Ophthalmol. 2020 May;98(3):e352-e362
65. Soeters N, van der Valk R, Tahzib NG. Corneal cross-linking for treatment of progressive keratoconus in various age groups. *J Refract Surg.* 2014; 30:454-460
  66. Ghanem RC, Netto MV, Ghanem VC, Santhiago MR, Wilson SE. Peripheral sterile corneal ring infiltrate after riboflavin-UVA collagen cross-linking in keratoconus. *Cornea.* 2012; 31:702-705
  67. Mangioris GF, Papadopoulou DN, Balidis MO, Poulas JL, Papadopoulos NT, Seiler T. Corneal infiltrates after corneal collagen cross-linking. *J Refract Surg.* 2010; 26:609-611
  68. Gumus K. Acute idiopathic endotheliitis early after corneal cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A. *Cornea.* 2014; 33:630-633
  69. Holopainen JM, Krootila K. Transient corneal thinning in eyes undergoing corneal cross-linking. *Am J Ophthalmol.* 2011; 152:533-536
  70. Gokhale NS. Corneal endothelial damage after collagen cross-linking treatment. *Cornea.* 2011; 30:1495-1498
  71. Sharma A, Nottage JM, Mirchia K, Sharma R, Mohan K, Nirankari VS. Persistent corneal edema after collagen cross-linking for keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2012;154:922-926
  72. Salmon HA, Chalk D, Stein K, Frost NA. Cost effectiveness of collagen crosslinking for progressive keratoconus in the UK NHS. *Eye (Lond).* 2015; 29:1504-1511
  73. Sandvik GF, Thorsrud A, Råen M, Østern AE, Sæthre M, Drolsum L. Does corneal collagen cross-linking reduce the need for keratoplasties in patients with keratoconus? *Cornea.* 2015; 34:991-995
  74. Godefrooij DA, Gans R, Imhof SM, Wisse RPL. Nationwide reduction in the number of corneal transplantations for keratoconus following the implementation of crosslinking. *Acta Ophthalmol* 2016; 94:675-678
  75. Godefrooij DA, Mangen MJ, Chan E, O'Brart DPS, Imhof SM, de Wit GA, Wisse RPL. Cost-effectiveness analysis of corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus. *Ophthalmology.* 2017; 124:1485-1495
  76. Hill J, Liu C, Deardorff P, Tavakol B, Eddington W, Thompson V, Gore D, Raizman M, Adler DC. Optimization of oxygen dynamics, UV-A delivery, and drug formulation for accelerated epi-on corneal crosslinking. *Current Eye Research.* 2020 Apr 2;45(4):450-8.
  77. Richoz O, Hammer A, Tabibian D, Gatziofufas Z, Hafezi F. The biomechanical effect of corneal collagen cross-linking (CXL) with riboflavin and UV-A is oxygen dependent. *Translational vision science & technology.* 2013 Nov 1;2(7):6-.
  78. Dupps Jr WJ. Corneal refractive surgery in keratoconus. *Journal of Cataract & Refractive Surgery.* 2020 Apr 1;46(4):495-6.
  79. Elling M, Kersten-Gomez I, Dick HB. Photorefractive intrastromal corneal crosslinking for treatment of myopic refractive error: findings from 12-month prospective study using an epithelium-off protocol. *Journal of Cataract & Refractive Surgery.* 2018 Apr 1;44(4):487-95.
  80. Tabibian D, Richoz O, Hafezi F. PACK-CXL: Corneal cross-linking for treatment of infectious keratitis. *Journal of ophthalmic & vision research.* 2015 Jan;10(1):77.
  81. Atia R, Jouve L, Knoeri J, Georgeon C, Laroche L, Borderie V, Bouheraoua N. Corneal collagen cross-linking to treat infectious keratitis. *Journal francais d'ophthalmologie.* 2018 Jun;41(6):560-8.