

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

A perforáló keratoplasztika alkalmazása lovakban

PhD értekezés

Dr. Makra Zita

2016.

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Prof. Dr. Bodó Gábor, Dipl. ECVS
SZIE ÁOTK Lógyógyászati Tanszék és Klinika
témavezető

Prof. Dr. Tóth József
Tierärztliche Klinik Domäne Karthaus, Németország, Dülmen
témabizottság tagja

Dr. Kerényi Ágnes, PhD
Osztályvezető főorvos, Szemészeti Osztály,
Bajcsy-Zsilinszky Kórház, Budapest
témabizottság tagja

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....
dr. Makra Zita

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	3.
Rövidítések	4.
Összefoglalás	5.
1. Bevezetés és irodalmi áttekintés	7.
2. Célkitűzések	17.
3. Kísérletes perforáló keratoplasztika és graft immunrejekció	18.
3.1 Bevezetés	18.
3.2 Anyag és módszer	19.
3.3 Eredmények	26.
3.4 Megvitatás	35.
4. Perforáló keratoplasztika alkalmazása szaruhártya tályog gyógykezelésére	39.
4.1 Bevezetés	39.
4.2 Anyag és módszer	39.
4.3 Eredmények	44.
4.4 Megvitatás	46.
5. Perforáló keratoplasztika tapasztalatai klinikai esetekben	49.
5.1 Esetleírások	49.
5.2 Megvitatás	62.
6. Következtetések	67.
7. Új tudományos eredmények	68.
8. Irodalomjegyzék	69.
9. Publikációk	73.
10. Köszönetnyilvánítás	76.

Rövidítések

ASA	American Society of Anesthesiologists
BID	Naponta kétszer (bis in die)
BSS	Balanced Salt Solution
DM	Descemet-membrán
EDTA	Etilén-diamin-tetraecetsav
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FoNo Vet	Formulae Normales Veterinariae
HE	Hematoxin-eozin festés
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IM	Intramusculárisan
inj.	Injekció
IV	Intravénásan
MALK	Mély anterior lamelláris keratoplasztika
MLEK	Mély lamelláris endothelialis keratoplasztika
MMP	Mátrix metalloproteináz
NSAID	Nem-szteroid gyulladáscsökkentő gyógyszer (non-steroid antiinflammatory drug)
OD	Jobb szem (oculus dexter)
OS	Bal szem (oculus sinister)
OU	Mindkét szem (oculi uterque)
PAS	Periodic-acid-Schiff festés
PIVA	Balansz anesztézia (Partial Intravenous Anesthesia)
PK	Perforáló keratoplasztika
PLK	Posterior lamelláris keratoplasztika
PLR	Pupilla fényreflex (Pupillary Light Reflex)
PO	Szájon át (per os)
QID	Naponta négyszer (quater in die)
SA	Cornea stroma tályog (Stromal Abscess)
SID	Naponta egyszer (semel in die)
SPL	Subpalpebrális drén (subpalpebral lavage)
subconj.	Subconjunctivális
TID	Naponta háromszor (ter in die)
USP	United States Pharmacopeia

Összefoglalás

A perforáló keratoplasztika (PK) egy jól kivitelezhető és sikeres mikrosebészeti eljárás a ló szemészetben. A szaruhártya teljes vastagságára kiterjedő perforáló keratoplasztika a lágyuló corneafekély, a szaruhártya perforáció, a descemetokele és a szaruhártya teljes vastagságára kiterjedő tályog kezelésére egyaránt alkalmas. Gyakorlati szempontból elsősorban fagyasztva tárolt corneagraftok javasolhatók a különféle szaruhártya átültetések során lovakban. Habár a beültetett corneagraftok a gyógyulási folyamat során elhomályosodnak és ereződnek, a szaruhártya perifériás integritásának helyreállítását és a gyulladásnak a centrális területekre történő továbbterjedésének megállítását követően, az ép centrális szaruhártya jó látóképességet tud biztosítani.

A munka első részében nyolc egészséges szemű lovon kísérletes szaruhártya-átültetést végeztünk. Vizsgálataink célja a hosszútávú utánkövetés, illetve a műtét után a humorális ellenanyagok szintjének mérése a könnyfilmben és az immunreakciók leírása volt. Az egészséges szemek műtéteinél friss, fagyasztott és szövettároló folyadékban tárolt szaruhártya-graftokat használtunk fel és összehasonlítottuk a graftbeépülés eredményeit. Először alkalmaztunk szövettároló folyadékban tartósított szaruhártya-graftokat PK műtétekhez. Leírtuk a graftvételi technikát, a tárolást, a sebészi eljárás menetét, a műtéti utókezelést és a komplikációkat. Az átlagos utánkövetési idő 286 nap volt. Minden egyes graft beépült a recipiens szaruhártyába, de elhomályosodott, ami az immunreakció eredménye, ugyanis a beépült szaruhártya darab bár átlátszóságát elveszíti, de általa a szaruhártya integritása fenntartható marad. A különféleképpen nyert graftok klinikailag hasonlóan gyógyultak és a végső kozmetikai eredmény is azonos volt. Az egészséges és tiszta szaruhártyák a műtét előtt mindenképpen alacsony kockázatot jelentenek a kilökődés vagy immunreakció szempontjából. A friss és tárolófolyadékban tartósított graftok ép endotheliummal rendelkeznek, műtét után azonban mégsem kaptunk átlátszó graftokat. A műtét előtt, majd a műtét után sorozatosan vett könnymintákból direkt ELISA módszerrel meghatároztuk az IgA-, IgG- és IgM-szinteket. Így a korai posztoparatív szakaszban ki tudtuk mutatni az IgA, IgG és IgM ellenanyagokat a könnyből. Az IgG szintje a teljes vizsgálat során alacsonyabb volt a többi vizsgált immunglobulinhoz képest, míg az IgA és IgM szintek nagy variabilitást mutattak mind az idő függvényében mind az egyes szemek tekintetében.

A munka második részében három klinikai esetet dolgoztunk fel és mutattunk be, melyeknél a szaruhártya teljes vastagságára kiterjedő tályog miatt PK-t alkalmaztunk. Az esetleírások során ismertetjük a kórelőzményt, a klinikai tüneteket, az allograft transzplantáció menetét és a műtét utáni eredményt. Mindhárom esetben kimetszésre került az egész strómára kiterjedő tályog. A cornea-trepánnal kör alakban kimetszett tályog helyére 1 mm-el nagyobb átmérőjű teljes vastagságú donor szaruhártya darabot rögzítettünk

varratokkal. Minden PK műtét után heg maradt vissza a graft helyén, de a szemek fényt érzéltek és két esetben látóképesek maradtak. A PK egy hatékony szemsebészeti eljárás a stroma tályogok kezelésében lovaknál, mivel ezen tályogok felületi kezelése hatástalan. A műtét utáni eredmény is kedvező, korai műtéttel a látás megőrizhető és kozmetikailag is jó eredmény nyerhető. Az európai szakirodalomban eddig nem jelent meg olyan leírás, amelyben szaruhártya-tályogok kezelésére PK műtétet végeztek lovakban.

A munka harmadik részében hat további klinikai esetet írtunk le, amelyekben a PK műtétek összes indikációja szerepelt. Az elvégzett PK műtéttel – akár kötőhártya lebennnyel kombinálva – sikeres fényérzékelés, esetenként jó látóképesség maradt meg még a szaruhártya teljes perforációja esetén is. A varratokkal rögzített graft minden esetben beépült a szaruhártyába, azonban a területén a cornea szöveti fibrózisa és átlátszatlan hegeképződés alakult ki.

1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A szaruhártya fekélyes gyulladásai és a nem-fekélyes keratitisek gyakori szembetegségek lovakban, amelyek veszélyeztetik a ló látását. (5, 7, 9) A gyulladós keratopátiák során a cornea stromájába jutott fertőző ágensek a neutrofil granulocyták infiltrációját, lassú epithelisiot, intenzív neovascularisatiot, a kollagén rostok átrendeződését és hegesedést váltanak ki. Gombák okozta fertőzések esetében a gyulladás a Descemet-membrán (DM) irányába halad, és a mikrobák aktivitásának következtében a stroma szerkezete felbomlik. Mátrix metalloproteinázok (MMP-2, MMP-9), elasztáz, proteáz enzimek károsítják a szaruhártyát, lágyuló fekélyt, tályogot okoznak, valamint következményes súlyos mértékű iridocyclitist idéznek elő. (8)

Lovaknál a keratoplasztikát elsősorban gyógyítási célból végezzük a gyulladós folyamatok eliminálására vagy tektonikus célból és nem direkt látás javítás céljából. Ezért a keratoplasztikát a keratitisek gyógyszeres, konzervatív kezelésének sikertelensége esetén és az egyidejűleg fennálló iridocyclitis megszüntetésére vagy a cornea integritásának helyreállítására alkalmazzuk. A konzervatív kezelés akkor minősíthető sikertelennek, ha a megkezdése után 48 órával nincs jelentős javulás a cornealézió méretét, vascularisatióját és az anterior uveitist illetően. (8) A perforáló keratoplasztika (PK) főbb indikációi lovakban: a stroma mélyében helyeződő léziók (stroma-tályog – SA; endothel gyulladás; neoplázia) kimetszése, illetve a szem szerkezeti felépítésének megtartása, a károsodott szaruhártya pótlása céljából, például mély lágyuló fekélyek, descemetokele vagy perforáló cornea sérülés esetén. (5)

A PK a szaruhártya teljes vastagságának mikrosebészeti átültetése, amely magában foglalja a szaruhártya összes rétegének: epithelium, stroma (substantia propria; főként I. típusú kollagén rostok), Descemet-membrán (DM, posterior elastic lamina; főként IV. típusú kollagén rostok), endothelium kimetszését és pótlását. A perforáló keratoplasztika általános anesztéziában jól kivitelezhető, amely a beültetett graft elhomályosodása mellett a legtöbb esetben a látóképesség közel 80%-a megőrizhető. (11)

A lamelláris keratoplasztika célja csak a megbetegedett szaruhártyaréteg kicserélése és az egészséges rétegek megtartása. (26, 39) A lamelláris keratoplasztikák 3 típusát alkalmazhatjuk lovakban: mély anterior lamelláris keratoplasztikát (MALK), posterior lamelláris keratoplasztikát (PLK) és mély lamelláris endothelialis keratoplasztikát (MLEK). (12)

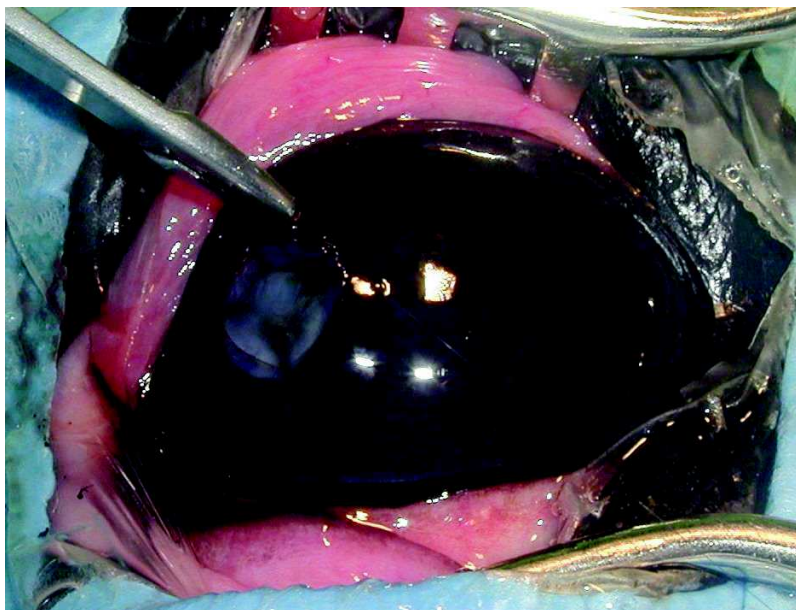
Perforáló keratoplasztika (PK)

A perforáló keratoplasztika már régóta használt gyógykezelési mód a fertőzött és a nem fertőzött keratopátiák miatt kialakuló irreverzibilis szaruhártyahomályok eltávolítására

emberekben. (36) Emberben a többi szerv transzplantációjához viszonyítva a nem gyulladt corneákba bevarrt graftok beépülési sikere nagy, mert a szaruhártya immunológiai kilökődési esélye igen kicsi. Azonban erezett, fertőzött vagy ismételt graft-beültetés alkalmával, nagyobb eséllyel fordulhat elő kilökődés emberekben. A súlyos gyulladás növeli a PK kilökődési kockázatát, ezért lovakban mindig számolni kell e kockázati tényezők meglétével és a cornea graft immunreakciójával. (11)

Az első perforáló keratoplasztikát lóban 1993-ban végezték Floridában az egyetemi klinikán. (14) Lovakban a PK-műtétet általános anesztéziában végezzük, a kóros cornea teljes vastagságában kimetszésre kerül és a donor graftot minden esetben varratokkal rögzítjük a környéki szaruhártyához. A recipiens szemgolyót a sclerába helyezett tartó varratokkal kell rögzíteni, majd a kimetszendő területet Castroviejo-féle cornea caliperrel (mérőkörző) lemérjük (általában 1 mm-el nagyobb, mint a tályog átmérője). Olyan klinikai esetben, amikor a cornea már perforálódott, érdemes legelőször a szemcsarnokot viszkoelasztikus anyaggal feltölteni, majd utána lemérni a kimetszendő területet, mert a sebzéssel, a csarnokvíz elfolyásával és az iris előesésével mind a cornea felülete, mind az elülső szemcsarnok mérete megváltozik. Ezután Franchesetti-féle corneatrepannal (Eickemeyer, Tuttlingen) kör alakú metszést ejtünk a stroma mély rétegéig (stroma 75%-áig), majd az elülső szemcsarnokba egy hegyes, vékony szikepengével jutunk be (Beaver szikepenge No. 65). A lovak szaruhártyájában nem található Bowman-hártya (anterior elastic lamina; az epithelium és a felületes stroma között), sem Dua-hártya (a mély stroma és DM között), az elülső szemcsarnok megnyitása után a csarnokvíz elfolyása miatt a csarnok összeesik, a cornea jelentősen meggyűrődik. Ez kivédhető, ha a csarnok perforációja után viszkoelasztikus anyaggal töltjük fel azt (nátrium-hyaluronát 10 mg/ml, Hylartin, Pfizer; vagy 1,8% nátrium-hyaluronát 2,0 ml I-Visc® Vet, I-MED Pharma Inc.). A diszperzív viszkoelasztikus anyagok (pl. 1,2 % nátrium-hyaluronát vagy metilcellulóz) alkalmazásával a szaruhártya endotélrétegét védjük, a kohezív viszkoelasztikus anyagokkal (pl. 2 % Na-hyaluronát) pedig a szem elülső szegmentumának terét tudjuk fenntartani és a szivárványhártya előesését megelőzni. A viszkoelasztikus anyag védi a szaruhártya endothel rétegét, fenntartja a szem elülső szegmentumának terét, azzal segítve az operatív manipulációkat és megakadályozza a szivárványhártya előesését. A műtét folyamán szükséges lehet a viszkoelasztikus anyag ismételt befecskendezése az elülső szemcsarnokba. A műtétet követően eltávolítása nem szükséges, biztonsággal a szemben hagyható. Az elülső szemcsarnok megnyitása után a körkörös trepan metszés mentén jobb illetve bal irányú cornea ollóval metszük ki a gyulladt szaruhártya darabot. Ügyelni kell, hogy a szivárványhártyát, szőlőgeresztet (granula iridis) és az elülső lencsetokot ne érje sérülés a csarnokba jutáskor illetve a cornea korong kimetszésekor. A donorként használt szaruhártya származhat friss lóhullából (az elhullás után 24 órán belül felhasználva) vagy fagyasztva tárolt szemgolyóból. A leggyakrabban

használt donorgraft 6–8 mm átmérőjű és általában 1 mm-el nagyobb a recipiensből eltávolított szaruhártya korongnál, hogy a csarnokvíz szivárgása nélkül illeszkedjen a recipiens cornea területbe. (14) A donor graftot teljes egészében kímélni kell a manipuláció során, főleg az endothelialis oldal felől, amely a legsérülékenyebb, mert csak részleges regenerációra képes. A donor korong csak az epithel-stroma találkozásánál fogható meg csipesszel. A donor szemgolyóból corneatrepánnal kimetszett graftot az epithelialis oldallal felfelé először 4 egyszerű csomós, nem perforáló varrattal rögzítjük – az óra számlapját tekintve – 12, 6, 9, 3 óra pozícióban USP 7-0 vagy 8-0 vagy 9-0-ig terjedő szakítószilárdsággal rendelkező, felszívódó fonállal (polyglactin 910, Vicryl), majd a kvadrásokat is hasonló varratokkal töltjük ki. (14) (**1. ábra**)



1. ábra: Perforáló keratoplasztika első 4 egyszerű csomós varrata (PK)

A varratoknak merőlegeseknek kell lenniük a corneaseb vonalára. Javasolt a donor korong felől a recipiens szövet irányába öltetni, a sebszélektől és az egyes varratok között is 1 mm távolságot tartani. Az öltés a cornea vastagságának 2/3-áig terjedjen. Ha túl felületes az öltés, akkor a stroma mélyében szétnyílik a seb és a bediffundáló csarnokvíztől ödéma alakul ki. Ha pedig az öltés az elülső szemcsarnokba penetrál, akkor a csarnokvíz szivárogni fog a fonal mellett. (5) A seb szivárgásmentességének ellenőrzésére érdemes Seidel-tesztet végezni, amely esetben a fluorescein a sebből szivárgó csarnokvizet megfesti, vagy a csarnokot ismételten steril oldattal feltöltve ellenőrizni a sebzárást. A graft műtét utáni duzzadása, elhomályosodása és ereződése az immunológiai kilökődés jele, ami tipikusan az 5–7. napon jelentkezik. A műtét utáni felületi gyógyszeres kezelést általában még 40-50 napig javasolt folytatni. (9, 43) Műtét után a következő komplikációk léphetnek fel:

varratelégtelenség, a csarnokvíz szivárgása, anterior és posterior synechia, a graft fertőződése, endophthalmitis, uveitis és másodlagos cataracta, vakság, a szemgolyó sorvadása (phthisis bulbi). (11) A PK graftra varrt nyeles kötőhártya lebeny indokolt lehet akkor, ha mielőbbi érellátottság szükséges, azonban ilyenkor a terület nagyobb heggel fog gyógyulni. (14) Részleges ideiglenes tarsorrhaphiát érdemes végezni a corneaseb nyugalmának biztosítására 5-7 napra, valamint javasolt subpalpebralis drén (SPL) behelyezése a felületi kezelés kivitelezéséhez.

A legelső összefoglaló cikkek egyike 8 PK műtétet dolgoz fel és 1997-ből származik. Ebben a leírásban átlagosan 2 nap telt el a beteg klinikai felvétele illetve a gyógyszeres kezelés megkezdése és a műtét napja között. Négy esetben fagyasztott, a másik négy esetben friss corneát használtak donorként. Az esetek felében alkalmaztak a műtéti terület fedésére nyeles kötőhártyalebenyt. 6/8 esetben igazolódott a tályogok gombás eredete. (43) *Brooks* 14 év alatt elvégzett 86 PK műtétről számol be, melyekben 3–25 mm átmérőjű graftokat használt 4 hét és 28 év közötti életkorú lovakban. 52 esetben alkalmazott kötőhártyával vagy amnion-membránnal történő fedést. Műtét utáni komplikáció 26 esetben lépett fel, 67 műtött szem maradt látó (77, 9%) a pozitív fényreflex és a fenyegetési reflex alapján. (14)

Lamelláris keratoplasztikák

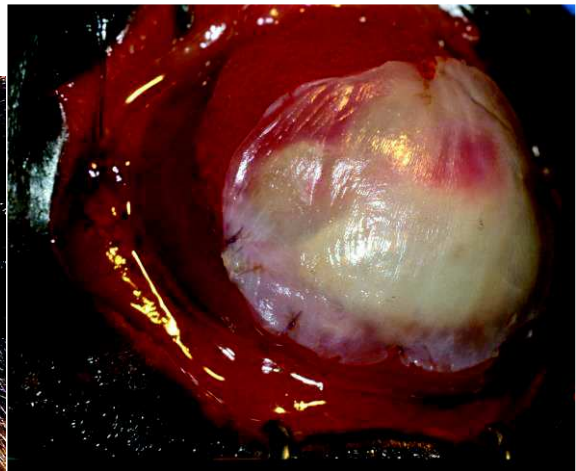
Bizonyos szaruhártya megbetegedések csupán a szaruhártya valamely rétegére (epithel, stroma, Descemet-membrán, endothel) korlátozódnak. Bármely réteg kimetszhető és helyettesíthető egy identikus egészséges donor szövetdarabbal (szelektív DM membrán transzplantáció nem elérhető). A környező egészséges szaruhártyarétegek ilyenkor épek maradnak. (26) A lószemészetben az alábbi lamelláris keratoplasztikák alkalmazhatók: mély lamelláris keratoplasztika, posterior lamelláris keratoplasztika, mély lamelláris endothelialis keratoplasztika. (9, 17)

Mély anterior lamelláris keratoplasztika (MALK)

A mély anterior lamelláris keratoplasztika indikációi lovakban a gyorsan progrediáló, nagy átmérőjű, igen súlyos stromalágyulással járó fekélyek, amelyek a DM-ig is terjedhetnek. (2. **ábra**)



2. ábra: Kiterjedt DM-ig terjedő gombás keratitis súlyos stroma lágyulással
(saját klinikai eset)



3. ábra: Amnionmembránnal fedett mély anterior lamelláris keratoplasztika (MALK)
(saját klinikai eset)

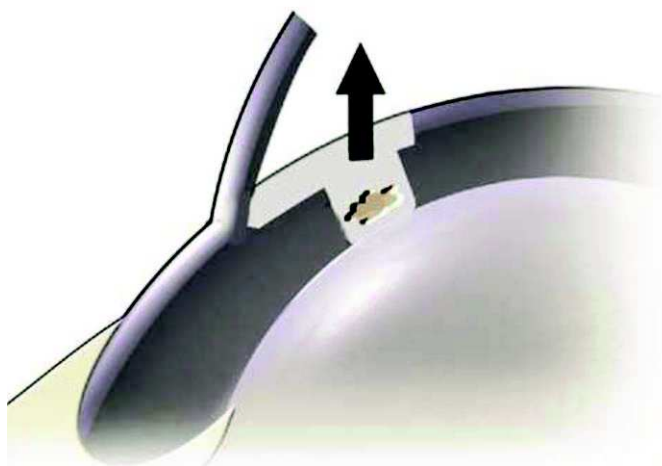
A mikrosebészeti eljárás során a megbetegedett felszíni rétegeket el kell távolítani, ha szükséges, akkor a DM-ig. Ilyen műtétet végzett Brooks kiterjedt lágyuló fekély (n=2) és descemetokele (n=2) alkalmával. (12) A műtétet általában amnionmembrán-transzplantációval kombinálják. Ezt az új, varratokkal rögzített donor szaruhártya felületére vagy az egész szaruhártya felületére a limbushoz varrják, hogy a beültetett felszíni graft kisebb heggel és gyorsabban gyógyuljon. (**3. ábra**) Lovakban azonban nehéz a DM-t feltárni és nem egyszerű elkülöníteni a mély stromarétegektől, mivel a stroma és DM között az emberi anatómiától eltérően nem laza az összeköttetés és nincs Dua-hártya sem. (36) Emberekben a rétegek elkülönítésére hidrodisszekciót, viszkodisszekciót vagy levegődisszekciót alkalmaznak, amelyek során vizes oldatot, viszkoelasztikus anyagot vagy levegőt fecskendeznek a cornea rétegei közé. Lóban a DM elkülönítése nehezebb, ezért Martinez-féle cornea disszektort használnak. (5) A humán elülső lamelláris keratoplasztika műtét során is hasznos lehet a disszektor.

Posterior lamelláris keratoplasztika (PLK)

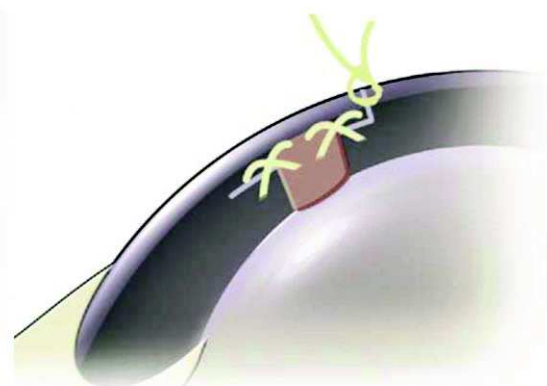
Az epithelium és az anterior stroma elváltozásai a mélyben zajló gyulladás következtében alakulnak ki. Ezért a szaruhártyatályogok leggyakoribb eseteiben az epithelium ödémás; az anterior stroma vascularisált, és a gyulladás a stroma mély rétegére, a DM-re és az endotheliumra korlátozódik. Ezek a mély tályogok gyakran egyáltalán nem reagálnak a felületi kezelésekre. A gombák okozta mély stromatályogok különösen hajlamosak az endothelen keresztül az elülső szemcsarnokba is betervedni, és súlyos fájdalmat, a látást fenyegető iridocyclitist kiváltani, amely szintén nehezen kezelhető gyógyszeresen. Ilyen esetekben a tályogot tartalmazó DM és endothel kimetszése szükséges, hogy meg

lehesse menteni a szemgolyót és a látást. (11) Így megszüntethető a mikrobiális antigén stimuláció, mert eltávolításra kerülnek az elhalt szövetrészek, metabolitok és toxinok, amelyek az elhalt fertőző ágensekből és fehérvérsejtekből származnak. (8) Azonban a toxinok és metabolitok egy része a szem elülső szegmentumában továbbra is perzisztálhat a tályog eltávolítását követően. A posterior lamelláris keratoplasztika akkor javasolt lovakban, ha a mély stromatályog a cornea *centrális* részén van, és az átmérője 10 mm vagy annál kisebb. **(4/a ábra)** A tályog felett lévő ép hám ödémás lehet, az anterior stroma erezett, de sejtes beszűrődés nincs, nem gyulladt. (9)

A műtétet általános anesztéziában végzik, amely során a szaruhártya felszínén a tályog körül egy három oldalú, szögletes lebenyt készítenek Beaver 65 szikepengével a stroma vastagságának feléig terjedően. Ajánlott, hogy a lebeny éles szélei és a varratok ne a cornea centrális részén, hanem a periférián legyenek. Legtöbbször azonban a perifériás rész jelentősen vascularisalt, ekkor a cornea centrális részén lesz a lebeny széle. Martinez-féle cornea disszektort használnak a felső stroma réteg vízszintes irányú elválasztásához. A háromoldalú lebeny gyengéd felemelése és kihajtása után a tályognak megfelelő méretű cornea trepánnal, Beaver-szikepengével és cornea ollóval metszik ki körkörösén a megmaradó mély stromát, a DM-t és az endothelt, amelyek a tályogot tartalmazzák. Az elülső szemcsarnokot viszkoelasztikus anyaggal töltik fel. Majd a donor szaruhártya identikus mély szövetéből 1 mm-el nagyobb graftot kell kimetszeni trepán segítségével, mint a tályog átmérője. A szaruhártyakorongot a kimetszett rész helyére illesztve USP 7-0 vagy 8-0 felszívódó fonállal egyszerű csomós varratokkal rögzítik a stroma mély rétegéhez. A cornea felső lebenyét is hasonló varratokkal kell zárni. **(4/b ábra)**



4/a ábra: Posterior lamelláris keratoplasztika (PLK), tályog kimetszése
(grafikus ábrák készítője: Gyulai Katalin)

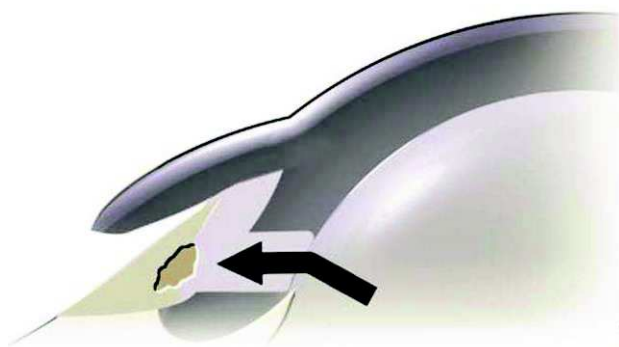


4/b ábra: PLK, cornealebeny varrása

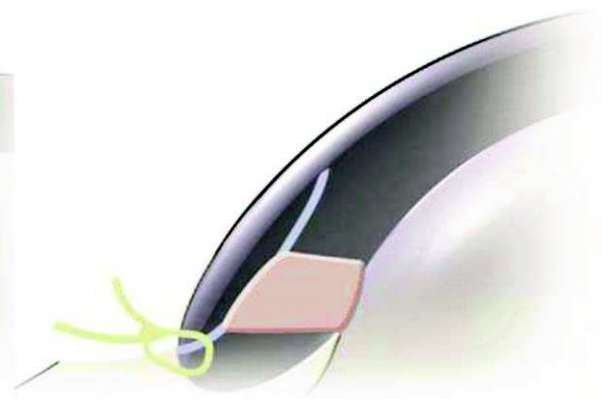
Ilyen sikeres műtétekről több ízben is beszámoltak, amikor a graft hegesedése után a szaruhártya és az uvea gyulladása megszűnt, a pupilla fényreflex és a fenyegetési reflex megtartott volt. (4, 14, 18) Az egyik legelső PLK műtétekről szóló leírásban a kimetszett corneadarabokból 62,5%-ban mutattak ki fertőző ágenseket kórszövettanilag, az átlagos műtéti idő 71 perc volt, és a műtét utáni gyógykezelési idő $23,7 \pm 5,2$ nap, a látóképesség pedig 88%-ban maradt meg. (4) A Brooks által említett szövődmények az 54 PLK műtétből 48 esetben a következők voltak: varratelégtelenség (n=16), a felső cornealebeny fertőződése és kifekélyesedése (n=20), mikrotályog kialakulása (n=4), a graft újravarrásának szükségessége (n=4) és 1–1 esetben perzisztáló cornea oedéma, hegesedés, cornea elődomborodása, és hyphaema voltak. (14)

Mély lamelláris endothelialis keratoplasztika (MLEK)

A mély lamelláris endothelialis keratoplasztika indikációja lovakban az a konzervatív gyógykezelésre nem javuló mély stromatályog, amely a cornea *perifériáján* helyeződik és 6–8 mm vagy annál kisebb átmérőjű. **(5/a ábra)** Az epithelium és a felső stroma általában ödémás és vascularisalt, de nem tartalmaz gyulladással sejteket. A technika előnye, hogy a műtét után a centrális cornea ép marad, nincsenek varratok a cornea középső felszínén. (34) Általános anesztéziában a műtét során egy kb. 25 mm hosszú corneametszést kell ejteni a tályoghoz közel a limbus mentén a stroma vastagságának feléig, majd Martinez-féle cornea disszektorral fel kell preparálni a szaruhártya felső rétegeit. Az epithelt és a felső stromát gyengéden felemelve egy corneatrepán és olló segítségével kimetszik a cornea mélyében lévő tályogot, és a keletkezett perforáción keresztül feltöltik az elülső szemcsarnokot viszkoelasztikus anyaggal. A donor szaruhártya szövetdarabból csak az alsó harmadot vágják ki körkörösén és használják fel, amely tartalmazza az egészséges DM-t és az endotheliumot. Ez a graft 1 mm-el nagyobb átmérőjű, mint a recipiens szaruhártyarészlet. A visszahajtott felső szaruhártyazsebet a limbusnál néhány varrattal részlegesen zárják, majd a donor graftot egy Utrata-csipesszel óvatosan a szaruhártya mélyébe illesztik, amit itt *varratokkal nem kell rögzíteni*. A felső szaruhártyazsebet a limbusnál ezután csomós varratokkal kell zárni. **(5/b ábra)**



5/a ábra: Mély lamelláris endothelialis keratoplasztika (MLEK), tályog kimetszése



5/b ábra: MLEK, cornealebony varrása a limbusnál

A behelyezett graft magától nekisimul a recipiens stromának, amit az endothel pumpa funkciója is segít. Esetleg egy, a corneasebnél vagy a limbusnál bevezetett vékony túvel meg lehet igazítani a donorgraftot. Végül az elülső szemcsarnokba ismételten fecskendezett viszkoelasztikus anyag is segít helybentartani a graftot. (9) Ilyen műtétekről *Brooks* több ízben is beszámol. (9, 11) Műtéti szövődményként, a már korábban említettekén kívül, a graft esetleges elmozdulásával kell számolni. Az endothelialis rész éreződik és átlátszatlan lesz, de összességében a beültetett terület (donor) műtét utáni átlátszósága mindegyik lamelláris keratoplasztika után jobb, mint PK esetében. (9, 11) *McMullen* és munkatársai 8 év alatt 376 szemészeti műtétet végeztek álló helyzetű lovakon, amelyekből a technikailag legnehezebbek a 16 esetben végzett PLK- és MLEK-műtétek voltak. (30) Megállapításuk szerint megfelelő szedációval, érzéstelenítéssel és sebészi gyakorlattal az álló helyzetű keratoplasztikák is kivitelezhetők olyan esetekben, amikor az általános anesztézia túl magas kockázatú lenne. *Brooks* 66 MLEK-műtétet írt le, amelyekben a szövődmények gyakorisága 26% volt, később 4 szemet enukleálni kellett az ismételten kialakult gombás eredetű tályogok miatt. (14) *Plummer* 10 MLEK-műtétről számolt be, amelyekben a cornea műtét utáni állapotát 7 esetben kitűnőnek, 3 esetben jónak írta le a hegesezés alapján, és az összes szem látó maradt. (34)

Ma már több klinikán végeznek perforáló keratoplasztikát a cornea teljes vastagságára kiterjedő elváltozások esetén, posterior lamelláris keratoplasztikát és mély lamelláris endothelialis keratoplasztikát mély stromatályogok sebészi gyógykezelésére, a tályog helyeződésétől függően. Ha az elváltozás helyeződése centrális, akkor PLK-t, ha perifériás, akkor MLEK-t ajánlott választani. Az epithelium és az anterior stroma gyulladással nem infiltrált, ödémás, esetleg vascularisodott. Mély anterior lamelláris keratoplasztikát nagy átmérőjű, lágyuló fekélyek és descemetokele esetében végeznek. (12) A sebészi gyógykezelés lehetővé teszi a keratoplasztika során kimetszett szaruhártyadarab

mikrobiológiai és kórszövettani vizsgálatát, célzottá és hatékonyabbá téve a posztoperatív gyógyszeres kezelést. (20) A recipiens szemet és a donort megfelelően elő kell készíteni és arra törekedni, hogy az operált szemgolyó minél rövidebb ideig legyen nyitott. Ha a szemfelszín túl hosszú ideig marad nyitott, akkor a fertőződés és a posztoperatív szövődmények esélye megnő. (11) Ajánlott bármely típusú keratoplasztikánál amnionmembrán vagy nyeles kötőhártyalebény készítése a keratoplasztika fedésére, továbbá ideiglenes laterális tarsorrhaphia 3–7 napig a szaruhártyaseb védelmére. A sikeres gyógyulás érdekében rendkívül fontos a műtét utáni nagyon intenzív felületi kezelés SPL-en adott gyógyszerekkel: antibiotikum (klóramfenikol 0,5%; neomycin-bacitracin-polymyxin B; tobramycin 1,5%; ciprofloxacin 0,3%; ofloxacin 0,3%; moxifloxacin 0,5%), antimikotikum (natamicin 5%, amphotericin B 0,2%, fluconazol 0,2%, voriconazol 1%, itraconazol 1%, ketokonazol 1%, miconazol 1%), mydriatikum-cycloplegikum (atropin 2%), proteáz inhibitor (autolog szérum, EDTA 0,2%, N-acetylcystein 10%, tetracyclin 0,1%, ilomostat-Galardin 0,1%) 4–6 óránként 30–50 napig. Szisztémásan adott NSAID (flunixin meglumin 1,1 mg/kg inj. IV., BID) 3–7 napig, antibiotikum (trimetoprim-sulfomethoxazol 20 mg/kg PO, BID, vagy doxycyclin 20 mg/kg PO. BID; kálium-penicillin 20.000 NE/kg IV. QID; gentamicin 6,6 mg/kg IV. SID) 3–7 napig, antimikotikum (flukonazol 14 mg/kg feltöltő adag 1 alkalommal PO, majd 5 mg/kg PO. BID, vagy vorikonazol 3 mg/kg PO. BID; itraconazol 1,5 mg/kg IV. SID) 10–30 napig. (5, 8)

Lovakban a beültetett graft bármely szaruhártyaátültetési technikánál (PK, MALK, PLK, MLEK) immunológiailag kilökődik, elhomályosodik, de ennek ellenére jó látóképesség érhető el a korai stádiumban elvégzett műtét után. A cornea gyulladása, fertőződése és érezettsége jelentősen befolyásolja a donor graft kilökődését. (31) Az eredetileg érmentes cornea neovascularisatioja során egyes faktorok (VEGF: endothel növekedési faktor, MMP-9) megnövekedett termelődése a corneában felborítja az angiogenetikus és anti-angiogenetikus faktorok egyensúlyát, így a limbus felől megkezdődik az erek betörése. (42) A recipiens cornea érezettsége a legfontosabb tényező a graft immunreakciója szempontjából, mivel megszűnik a szaruhártya immunvédeltsége. A vérereken keresztül idegen antigének kerülnek ki a graftból, a recipiens corneából pedig antigén prezentáló immunsejtek juthatnak a graftba. Mivel lovakban a legtöbb esetben súlyosan gyulladt és éreződött szaruhártyába történik a beültetés, fennáll a kockázata az immunreakciónak. Mindazonáltal a lovakban végzett PK-műtétek sikeres műtéti technikának számítanak amellet is, hogy a posztoperatív szövődmények száma nagy és igen intenzív műtét utáni kezelést kell folytatni. PK esetében még alacsonyabb szemnyomásnál is nagyobb a kockázata annak, hogy a cornea sebből csarnokvíz szivárog, mint lamelláris keratoplasztikáknál. A csarnokvíz szivárgása esetén, varratelégtelenségénél, vagy a varratok

eltályogosodásakor mielőbb el kell távolítani a korábbi varratokat és újakat kell behelyezni, a műtéti területet amnion- vagy kötőhártya-lebennyel kell fedni. E nyeles kötőhártya-lebény legkorábban 6 hét múlva metszhető át. (14) PK esetében a stromametszés és a varratok megváltoztatják a cornea felszínét, fénytörő képességét. A beültetett szaruhártyakorong epithelrétege gyakran leválik, ezzel bemeneti kaput képez a fertőzéshez. Ezek miatt a PK csak indokolt esetben végzendő. Napjainkban inkább előtérbe kerülnek a szaruhártya egyes, csak a megbetegedett rétegeit kicserélő lamelláris keratoplasztikák. A lamelláris keratoplasztikák gyorsabb gyógyulást (PLK: 24 nap; MLEK: 22 nap posztoperatív kezelés) és jobb látóképességet (PLK: 98,1%; MLEK: 89,4%) biztosíthatnak, mint a PK (50 nap, 75%). (14) A humán és ló szaruhártya-műtétek új irányzata kizárólag a cornea megbetegedett részeinek sebészi kimetszését, pótlását és az egészséges rétegek épen hagyását támogatja. (12, 39)

2. Célkitűzések

1. A munka során célunk volt megvizsgálni, hogy az egészséges ló szaruhártyán végzett perforáló keratoplasztika után, a beültetett cornea korong (allogén transzplantáció) milyen eredménnyel tud gyógyulni.
2. Célul tűztük ki a PK műtét után a friss, fagyasztott és szövettároló folyadékban konzervált graftok beépülése közötti különbség felfedését.
3. További célunk volt, hogy megvizsgáljuk, lehet-e sikeresen használni tartósított cornea allograftot PK műtéthez lóban?
4. Célunk volt, hogy megmérjük a könnyfilm immunglobulin szintjeit PK előtt és a korai posztoperatív napokban és megvizsgálni azok időbeli alakulását, valamint a mért értékeket összehasonlítani a nem-operált társszemekben mért értékekkel.
5. Célul tűztük ki a posztoperatív uveitis, a mért ellananyag-szintek, a kilökődés mértéke és a végső klinikai eredmény közötti összefüggések vizsgálatát.
6. Célunk volt továbbá a klinikai tapasztalatok összefoglalása, a PK műtéttechnikai nehézségeinek és lóra való adaptálásának bemutatása és az utókezelés javítása.

3. Kísérletes perforáló keratoplasztika és graft immunrejekció

3.1 Bevezetés

A PK egy homológ (allogén) transzplantáció, melynek során azonos faj egy másik egyedének a szövete kerül felhasználásra. A cornea transzplantációja ereztelen corneák esetében 95-98%-ban sikeres embereknél, mert a rejekciót elindító sejtek erek és lymphaticus utak hiányában messze esnek a transzplantátumtól. Ezen kívül a cornea immunprivilegizált szövet is, védi az ACAID (anterior chamber associated immun deviation) rendszer. Ez azt jelenti, hogy a transzplantátum az elülső csarnokban olyan immunválaszt vált ki, amely maga után vonja a T-szuppresszor sejtek számának növekedését. Ezért az immunválasz késői (IV) típusú, ha egyáltalán létrejön. A kilökődés szempontjából magas rizikójú corneák (fertőzött, neovascularisált) immunológiailag nem semlegesek vagy nem védettek, mivel ekkor a gyulladós sejtek domináns populációját a CD4⁺, CD8⁺ T sejtek és makrofágok képviselik. (21) Így minden PK-t igénylő lószem magas kockázatúnak számít az immunrejekció szempontjából, mivel a beültetett graft gyulladt, fertőzött és erezett corneába kerül. A graft immunrejekciója makroszkóposan is látható, mivel a graft területe elhomályosodik. A műtétkor fennálló erezettség eleve megszünteti a cornea immunvédeltségét, mert antigének juthatnak ki a graftból a recipiensbe, illetve a gazdaszervezetben a vér- és nyirokereken keresztül antigén-prezentáló sejtek juthatnak a graftba. Az ereződés a cornea gyógyulási folyamatának is része, amikor a polymorphonuclearis sejtek infiltrációja, cyclooxygenáz- és lipoxigenáz-mediált gyulladós folyamatok és citokinek, növekedési faktorok hatására érbetörés, angiogenesis indul meg a szaruhártyában. (5) Ugyanakkor lóban a vérerek fontos szerepet játszanak a cornea gyógyulásakor a mechanikai megerősítésben és a graft megfelelő beépülésében is. (17) A lovakban kivitelezett minden típusú keratoplasztika (kivéve a nagy átmérőjű graftok a jelentős hegesedés miatt) jó látóképességet eredményezhet (75-90%), ahol a cornea centrumát nem érinti a következményes hegesedés. Bizonyos mértékű immunrejekció (erezettség, fibrózis, pigmentáció) és hegképződés elkerülhetetlen a beültetés területén. Az eredmény akkor kedvező, ha a szaruhártya centrális részét nem érinti a hegesedés és az uveitis szövődményeként nem alakulnak ki belső szemelváltozások (mint pl. cataracta vagy secclusio pupillae). Eddig lovakban egy szaruhártyaműtét sem eredményezett teljesen tiszta és átlátszó graftot. (2, 4, 7, 45)

Nyolc kísérletes PK műtétről számoltunk be átlagosan 286 nap utánkövetési idővel. Először írtuk le szövettároló folyadékban tartósított cornea graftok felhasználását lovak szaruhártya műtéteinél. A különböző technikákkal tartósított graftok beültetése után a

könnyből immunglobulin-szinteket mértünk és vizsgáltuk a graft immunrejekciójának lehetséges okait.

3.2 Anyag és módszer

A kísérletben a Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar Nagyállatklinikájának tulajdonában levő – más kísérletben is résztvevő és amiatt eutanázia előtt álló – nyolc lovát használtuk (1-8. eset). Minden ló teljes féregtelenítési és vakcinázási protokollal rendelkezett. A lovak magyar félvérek voltak, életkoruk 3 és 7 év között változott. Két esetben a jobb szemén (4., 7. eset) és hat esetben a bal szemén végeztünk PK műtétet. Öt donor corneát tároltunk szövettároló folyadékban (1-5. eset), kettő friss corneát (6. és 7. eset) és egy mélyfagyasztott corneát használtunk (8. eset). A lovak réslámpa-biomikroszkóp, direkt oftalmoszkóp és tonométer használatával szemészeti vizsgálaton estek át, mely alapján mindkét szemük egészségesnek bizonyult. A transzplantációk menetét az **1. táblázat** tartalmazza.

A Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-Biztonsági, Növény és Talajvédelmi Főosztályának Állategészségügyi Osztálya és a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága a nyolc ló kísérleti felhasználását engedélyezte. A kísérleti engedély száma: 461/013/Pest/2006.

A donor szaruhártya előkészítése

Donorként a klinikán egyéb okból véglegesen elaltatott, 10-13 éves magyar félvér herélt lovakat használtunk. A donor állatnak mentesnek kell lennie fertőző betegségtől, daganatos megbetegedéstől és egészséges szemmel kell rendelkeznie. Az alábbi három módszert alkalmaztuk a szaruhártya graftok tárolására:

1. Friss egész szemgolyó az eutanázia után eltávolítva (elhullás után 6-24 órán belül). Az enucleált szemgolyót hűtőszekrényben +4°C hőmérsékleten maximum 2 napig tároltuk steril nedveskamrában (6-7. eset).

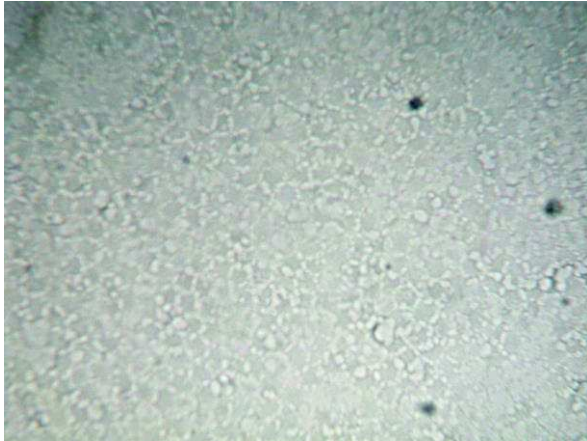
2. Tizenhárom corneát tartósítottunk a Budapest Cornea Bank protokollja alapján. A donor mintákat 6 hónapos és 13 éves kor közötti, egészséges szemű lovakból sterilen metszettük ki. Az elhullás és a szövetkimetszés közötti átlagos idő 7 óra (0,5 – 14,5 óra) volt. Az eutanázia után a szemfelszínt 0,5%-os Betadine oldattal és 0,3%-os gentamicin oldattal leöblítettük és a szaruhártyát egy vékony sclera szegéllyel szikével kimetszettük (1-5. eset). A mintavétel után az endothel sejtsűrűség 2400-3000/mm² volt non-kontakt spekulár mikroszkóppal vizsgálva. A corneákat szövettároló folyadékban tároltuk (Medium I és II.) átvéve a Humán Cornea Bank (Budapest, 1993. óta) tárolási protokollját. A **2. táblázat** tartalmazza a szövettároló folyadékok összetevőit. A szaruhártyákat a Medium I.

tárolófolyadékban akár hetekig is lehet tartani, de a felhasználás előtt legalább 3-7 nappal át kell őket helyezni a Medium II. tárolófolyadékba. Ez utóbbi 5% dextránt tartalmaz és magasabb a pH-ja és az ozmolaritása, hogy a cornea szövetét dehidráltan tartsa. A teljes tárolási időtartam maximum 30 nap lehet. Az endothel sejtek pusztulása a tárolás alatt 10 %-nál kevesebb lehet. A tárolás során összesen 2 ízben, a Medium I. tároló folyadékból az 5. napon, illetve a Medium II. tárolófolyadékba történő áthelyezéskor vettünk mintát bakteriológiai és mikológiai tenyésztésre. Összesen 13 corneát tároltunk, amelyek közül csak azokat használtuk fel, amelyek mikrobiológiai vizsgálata negatív eredménnyel zárult és a folyadékok is mindvégig tisztán átlátszóak maradtak. Az 1-5. esetekben az eutanázia okát, a cornea kimetszésének idejét, a donor ló ivarát, fajtáját, életkorát, a folyadékminták tenyésztési eredményét és a tárolás fázisait, idejét feljegyeztük.

A **6., 7., és 8. ábra** illusztrálja a Medium I-ben való ló-cornea tárolást és a folyadékba helyezés előtt készített mikroszkópos képet (Olympus CX21 binokuláris fénymikroszkóppal) az egyik minta cornea endotheljáról.



6. ábra: *Medium I, 5. nap*



7. ábra: Natív endothel, ló 200x nagyítás



8. ábra: Redőképződés, 200x nagyítás

3. A mélyfagyasztott tároláshoz cadaver lovakból 6 órán belül eltávolított szemgolyókat 0,3%-os gentamicin oldatos lemosás után mélyhűtőben -20°C hőmérsékleten tároltuk és felhasználás előtt néhány órával szobahőmérsékleten engedték kiolvadni (8. eset).

1. táblázat: Transzplantációk menete

	1. eset OS	2. eset OS	3. eset OS	4. eset OD	5. eset OS	6. eset OS	7. eset OD	8. eset OS
Donor cornea	Tárolás 11 napig, Medium I-II, 31°C	Tárolás 11 napig, Medium I-II, 31°C	Tárolás 10 napig, Medium I-II, 31°C	Tárolás 10 napig, Medium I-II, 31°C	Tárolás 16 napig, Medium I-II, 31°C	Friss cornea, max. 48 óráig, nedveskamra, 4°C	Friss cornea, max. 48 óráig, nedveskamra, 4°C	Mélyhűtött graft, -20°C
Varró- anyag	7-0 Vicryl	7-0 Vicryl	7-0 Vicryl	7-0 Vicryl	7-0 Vicryl	8-0 Nylon	8-0 Nylon	8-0 Nylon
Varrat	Egyszerű csomós	Egyszerű csomós	Egyszerű csomós	Egyszerű csomós	Egyszerű csomós	4 pozíciós egyszerű csomós és tovafutó	Egyszerű csomós	Egyszerű csomós
Felületi kezelés, SPL	Keratyl, Atropin, Tobramycin Klóramfenikol Szérum	Keratyl, Atropin, Tobramycin Klóramfenikol Szérum	Keratyl, Atropin, Tobramycin Szérum	Keratyl, Atropin, Tobramycin Szérum	Keratyl, Atropin, Tobramycin Klóramfenikol Szérum	Atropin, Klóramfenikol Szérum	Atropin, Klóramfenikol Szérum	Atropin, Klóramfenikol Ciprofloxacín Szérum
Minden lóból	100µl könny mintavétele a 0., 3., 6., 9., 12., 21. nap posztoperatíván, IgA, IgG, IgM szintek meghatározása							
Fluores- cein festés	6. nap:+ 10. nap:+ 21. nap:+	6. nap:+ 10. nap:+ 21. nap:-	6. nap:+ 12. nap:+ 21. nap:+	6. nap:+ 12. nap:+ 21. nap:+	9. nap:+ 14. nap:+ 21. nap:+	12. nap:+ 21. nap:-	10. nap:+ 21. nap:+	6. nap:+ 10. nap:+ 21. nap:+
Után- követés	180 nap	180 nap	425 nap	180 nap	425 nap	270 nap	403 nap	225 nap

2. táblázat: Szövetároló folyadék: Medium I és II.

Szövetároló folyadék <u>Medium I.</u> (+31°C)	1000 ml
Minimum Essential Medium Eagle (MEM) (SIGMA)	100 ml
Nátrium-bicarbonát oldat 7,5% (SIGMA)	30 ml
L-Glutamin 200mM (SIGMA)	10 ml
Hepes puffer 1M (SIGMA)	25 ml
Penicillin 1.000.000 NE (5ml)	100.000 NE
Gentamycin 40 mg/ml (2 ml)	~200 mg
Amphotericin B 250 µg/ml (SIGMA)	5 mg
Foetal Bovine Serum (FBS)	20 ml
Disztillált víz	800 ml

pH 7.2-7.3

Ozmolaritás: 310-330 mOs

Szövetároló folyadék <u>Medium II.</u> (+31°C)	1000 ml
Medium I+ Dextran (500.000 M) (SIGMA)	50 g
pH 7.3-7.6	
Ozmolaritás: 320-350 mOs	

Perforáló keratoplasztika

A vékony scleraszegéllyel rendelkező, folyadékban tárolt donor corneákat steril izotóniás sóoldattal leöblítettük, majd egy Franceschetti-féle cornea körkés (trepán) segítségével egy teljes vastagságú darabot (allograft) metszettünk ki az endothel felől. Abban az esetben, ha teljes szemgolyó szolgált donorként, az epithel felől metsztük ki a graftot. A fagyasztva tároláshoz és a friss graftok esetében meghagytuk a teljes szemgolyót a tárolás során, mert tapasztalatunk szerint így könnyebben tárolható és nyerhető szaruhártya szövetdarab a donorból. A donor graft átmérője minden esetben 8 mm volt, 1 mm-rel nagyobb, mint a recipiens ágy átmérője. Az epitheliumot nem távolítottuk el a donor felületéről.

A lovak az alábbi kezelést kapták a műtét előtt: penicillin-streptomycin (Tardomyocel Comp. III. inj. IM), flunixin meglumin (1,1 mg/kg, Flunixin inj. IV.). A klinikán használt ASA 1 rizikócsoporthoz tartozó páciensnél alkalmazott szedációt (acepromazin 0,03 mg/kg, xylazin 1 mg/kg, butorphanol 0,05 mg/kg), indukciót (ketamin 2,2 mg/kg, diazepam 0,05 mg/kg) és anesztézia fenntartást (izoflurán 1,5-3 ET v/v% oxigén vivőgázban) használtunk a PIVA-t kiegészítve medetomidin 3,5 µg/kg/h folyamatos cseppinfúzióval. A lovakat oldalfekvésbe helyeztük, a szemet előkészítettük, ami a szempillák és szemkörnyéki hosszú tapintószőrök nyírását, a szemhéjak és szemkörnyék bőrének betadin oldatos (povidone-iodine, Betadine oldat, Egis) letisztítását és a kötőhártyaszák 0,5%-os betadin oldattal való kiöblítését foglalta magába. A retrobulbaris érzéstelenítés (10 ml Lidocain 20 mg/ml oldatos inj., Egis) és felületi érzéstelenítés (Humacain 4 mg/ml oldatos szemcsepp, Teva) után a szemkörnyék izolációja, szemréstágító és scleraba helyezett tartóvarrat (5-0 Vicryl) behelyezését követően a recipiens corneára paracentralisan és a felszínre merőlegesen egy 7 mm átmérőjű cornea trepánt illesztettünk. Azért végeztük a graft beültetést paracentralisan, az átlagos pupilla nagyságot figyelembe véve perifériásan, hogy a centrális szaruhártyát épen hagyva biztosítsuk a jó látóképességet. A trepánt manuálisan egy irányba forgatva és gyengéden, kis erővel a felszínre nyomva egy kör alakú bemetszést ejtettünk a szaruhártyán a stróma mélységének $\frac{3}{4}$ -éig. A stroma maradék részét egy hegyes Beaver szikepenge (No 65) segítségével perforáltuk és jutottunk be az elülső szemcsarnokba, vigyázva a corpora nigra és az iris épségére. Itt feltöltöttük a csarnokot viszkoelasztikus injekcióval (2% hydroxypropylmethylcellulose, Celoftal 1,5 ml, Alcon). A cornea maradék részét a korábban ismertetett módon cornea ollóval kimetsztettük.

Ezután a donor corneából kimetszett darabot az epithelialis oldallal felfele a recipiens ágyra helyeztük és 7-0 Vicryl (polyglactin 910, Ethicon) az 1-5. esetben, a 6-8. esetben pedig 8-0 monofil nylon varróanyaggal rögzítettük. Először 4 pozíciós varratot helyeztünk be 3, 6, 9, 12 óránál, majd egyszerű csomós varratokkal töltöttük ki a 4 pozíciós varrat közötti kvadránsokat. Az eredetileg behelyezett 4 pozíciós varratot meghagytuk, így a teljes graft

körvonalában körkörös csomós varratok rögzítették azt a környéki szaruhártyához. A 6. esetben egyszerű, nem megszakított tovafutó varratot használtunk a kvadránsok között a teljes transzplantátum körvonalában és a 4 pozíciós varratot itt is meghagytuk. Az első kisebb beöltést a donor korongba, a második nagyobb öltést a recipiens corneába helyeztük mélyen a stroma aljáig, egészen a Descemet membránig. A viszkoelasztikus anyagot nem távolítottuk el az elülső szemcsarnokból, és steril BSS oldattal növeltük a csarnok térfogatát. Végül Seidel teszttel ellenőriztük a sebzárást. A keratoplasztika területére nem helyeztünk nyeles kötőhártya lebenyt, hogy nyomon tudjuk követni a graft állapotát. Subconjunctiválisan adott injekcióval (1mg atropin szulfát, 3mg gentamicin) és a felső kötőhártya fornixba helyezett drénnel (SPL – Equivet ocular lavage 8 Fr kit, Kruuse) fejeztük be a műtétet.

Posztoperatív kezelés

A műtött szemeket az első 3 héten minden második napon, majd a 40., 60., 180. és 300. napon megvizsgáltuk réslámpa biomikroszkóppal. Az operált szaruhártyákat megfestettük fluoresceinnel a 6., 10., 14., 21. napon. A szemvizsgálat leleteit, a gyógyszeres kezeléseket és a komplikációkat folyamatosan regisztráltuk. A posztoperatív kezelések során felületi antibiotikumot (klóramfenikol vagy tobramycin vagy ciprofloxacin oldat QID), 2 %-os atropin szemcseppet QID (fokozatosan csökkentve) és autológ szérumot alkalmaztunk SPL-en 0,2 ml mennyiségben. A gyógyszereket 3 ml levegővel juttatuk át a drénen és a beadásuk között legalább 5 percet vártunk. Flunixin meglumint (1,1 mg/kg IV.) és penicillin-streptomycin injectiót adtunk IM. Felületi hyaluronsavat (Keratyl szemcsepp, Chauvin Bausch & Lomb) adtunk az 1-5. esetben. Műtét után 1-2 hétig szemvédő sapkát használtunk. A varratokat nem távolítottuk el a szaruhártyából.

Ellenanyagok meghatározása a könnymintákból

Minden egyes mintavételkor 100 µl könnyet gyűjtöttünk mindkét szemből a mediális könny meniscusból a reflex könnyezést elkerülve üveg kapilláriscsővel felületi érzéstelenítés nélkül, a napi szemkezelések közötti időpontban. A mintákat a műtét előtt (0. napon), majd műtét után a 3., 6., 9., 12. és 21. napon nyertük. A könnyet az üveglapilláris csőből egy Eppendorf csőbe juttattuk, majd azonnal lefagyasztottuk és –80 °C-on tároltuk az összes minta egyidejű analíziséig.

A könnymintákból direkt ELISA módszerrel a szokásos standard protokoll alapján IgA-, IgG- és IgM- szinteket határoztunk meg. Összefoglalva, a mintákat szobahőmérsékleten való felengedés után tízszeresére hígítottuk foszfát-pufferolt sóoldatban (PBS, pH 7,4), minden hígításból 100 µl-t tettünk az ELISA tálca mélyedéseibe, és 4 °C-on inkubáltuk egy éjszakán

keresztül. A nem megkötött ellenanyagot PBS-T (PBS tartalmú 0,5% Tween 20, Sigma) oldattal mostuk ki, és az aktív helyeket blokkoltuk ugyanazzal a pufferrel, kiegészítve 0.5% szarvasmarhából származó szérum albuminnal (Sigma). A mintákat IgA, IgG és IgM ellenanyagok jelenlétére vizsgáltuk anti-Ió Ig-HRPO konjugátummal (Serotec) minden izotípusnál, a gyártó előírásai alapján. A reakciót 450 nm-en értékeltük 3,3',5,5'-tetramethylbensyidint használva. Vizsgáltuk, hogy eltérnek-e az operált szemekből és az ellenoldali kontroll szemekből vett könnyminták ellenanyag-szintjei és változnak-e az idő függvényében az egyes immunglobulin-szintek. Összehasonlítottuk a klinikailag gyulladt és kevésbé gyulladt szemek könnymintáit is.

3.3 Eredmények

Klinikai eredmények

A donor corneák közül 5 szövettároló folyadékban volt tárolva (1-5. eset), 2 friss (6. és 7. eset), 1 pedig fagyasztott (8. eset) volt. Az 1. és 2. esetben 11 napig tárolt corneákat; a 3. és 4. esetben 10 napig; az 5. esetben 16 napig tárolt corneát használtunk beültetéskor. Az első posztoperatív napon blepharospasmus, és a graft környékére lokalizálódó ödéma volt megfigyelhető minden műtött szemnél. Később a graft átlátszóságát a vizsgálatkor készített fényképek és írásos vizsgálati leletek alapján ítéltük meg és átlátszatlan vagy ödémás vagy fibrotikus jelzőkkel írtuk le.

A harmadik posztoperatív napon enyhe, közepes vagy súlyos blepharospasmust láttunk és az 1., 2., 5., 6., 8. esetekben muroid váladékozás volt tapasztalható. A graftok még ödémásabbak voltak és kidomborodtak a szaruhártya síkjából, illetve a graft környéki szaruhártya is ödémás volt. A 3.-4. napon a felületi kezelésben adott tobramycint klóramfenikolra cseréltük az 1., 2., 5. esetekben illetve ciprofloxacinnal a 8. esetben, amelyet a szemek mucopurulens váladékozása és a mikrobiológiai mintából végzett aerob baktériumtenyésztés és antibiogram eredménye indokolt (8. eset).

Kezdetben a graft területe rózsaszínű volt a neovascularisatio és a sejtes infiltráció miatt, amelyek a gyógyulási folyamat velejárói. A műtét utáni kb. 4-5. naptól minden esetben láttunk felületesen haladó vérereket a limbus felől a graft felé növekedni. A PK műtét után két héttel a graftok jelentősen megduzzadtak, és mint egy subepitheliális hólyag kidomborodtak a szaruhártyából, gyakran majdnem 1 mm vastagságban. Az iridocyclitis klinikai jelei, úgy mint miosis, zavaros csarnokvíz, mély stromális cornea vascularisatio és ödéma minden lóban megfigyelhető volt, de különböző mértékben (jelentős anteior uveitis: 1., 5., 8. eset) az első 21 napban. A második-harmadik hét után nem volt fluorescein-pozitív festődés és az epithelialisatio befejeződött. Minden esetben jellemzően a 42. nap környékén jelentős cornea

fibrosis és pigmentáció volt megfigyelhető a recipiens corneában. A graftok átlátszatlanok és erezettek maradtak, de az ödéma és bullaképződés ekkorra megszűnt. A pigmentáció foka általában korrelált a szem gyulladásával (pl. 2. eset: alig gyulladt és nincs pigmentáció; 8. eset: intenzív gyulladás és fokozott pigmentáció). Mindig tapasztaltunk bizonyos fokú graft immunrejekciót, egy lóban sem volt teljesen átlátszó grafttal rendelkező szem. A **9. ábra** három ló műtött szemeinek gyógyulási folyamatát mutatja, amelyeknél különböző módon tárolt graftokat használtunk donor corneaként (folyadékban tárolt graft: 2. eset; friss graft: 7. eset; fagyasztott graft: 8. eset).

Az átlagos műtéti idő 94 perc volt. A műtét utáni szövődmények és komplikációk a következők voltak: enyhe blepharitis a dorsalis conjunctiva fornixba ültetett SPL miatt az 1., 3., 8. esetben. A 8. esetben *Pseudomonas aeruginosa* miatt kialakult keratitis jelentkezett a 7. napon, amelyet mikrobiológiai mintavétel és tenyésztés alapján diagnosztizáltunk. Ekkor a felületi kezelésben adott klóramfenikolt ciprofloxacinnra cseréltük az antibiogram alapján, és a keratitis okozta súlyos klinikai tünetek a 21. nap körül megszűntek. A többi cornea gyógyulása fertőzés nélkül zajlott. A 7. esetben anterior synechia-t diagnosztizáltunk a 42. nap környékén. Két esetben: 3. és 5. eset, a cornea enyhe felületi egyenetlenségét és a görbület megváltozását tapasztaltuk, ebben a két esetben nagyfokú astigmia alakult ki. Minden szemet legalább 180 napig utánköveztünk és vizsgáltunk, az átlagos utánkövetési idő 286 nap volt (180-425 nap). A látóképesség megtartása 100 %-os volt a direkt PLR és a fenyegetési reflex megtartottsága alapján az utolsó szemvizsgálat alkalmával.

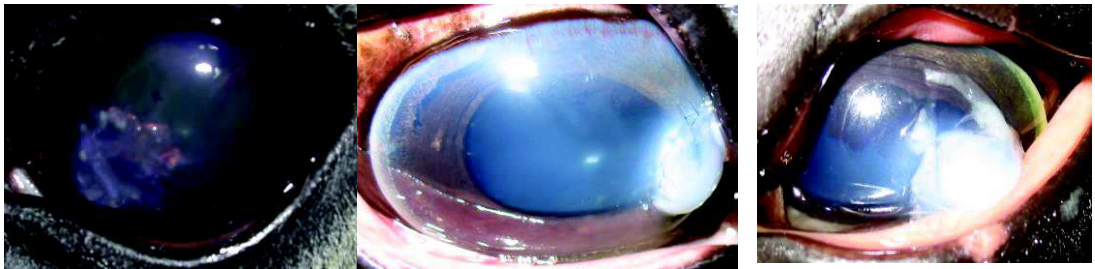
Posztoperatív

2. eset

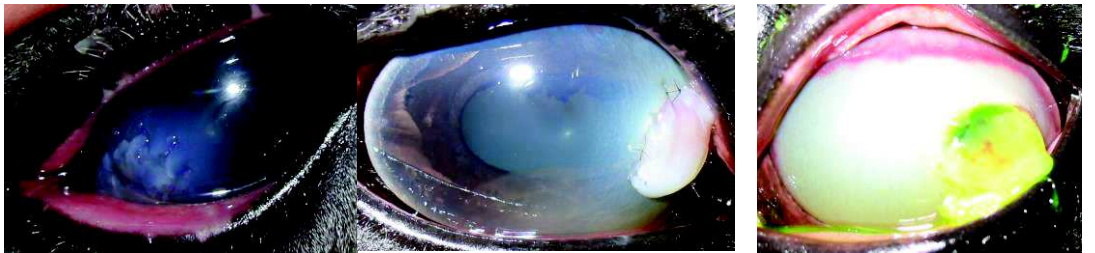
7. eset

8. eset

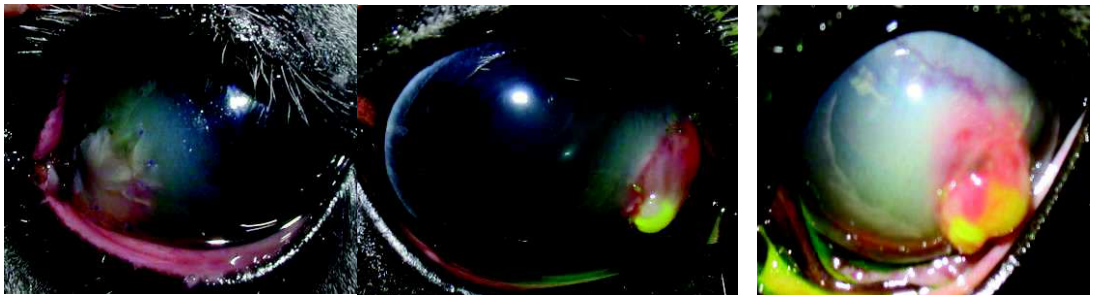
1. hét



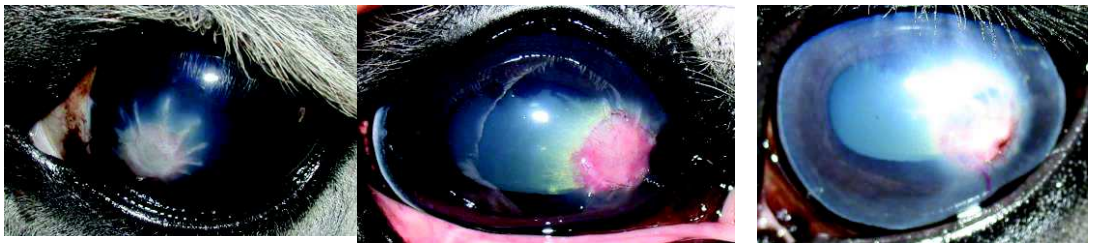
2. hét



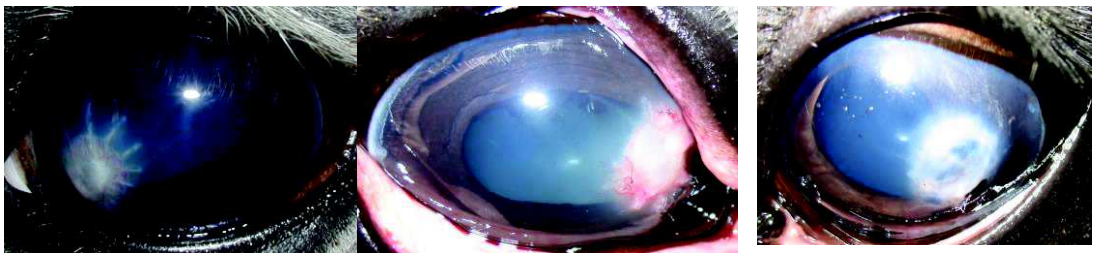
3. hét



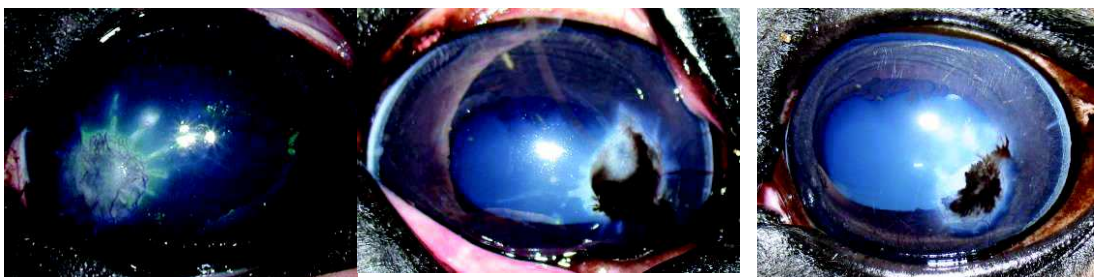
6. hét



10. hét



6. hó



9. ábra: Klinikai fázisok a gyógyulásban (2., 7., 8. eset)

A **3. táblázat** és **10. ábra** a könnymintákból mért IgA-, IgG- és IgM-szinteket mutatja a PK műtét előtt (0. nap), majd PK után a 3., 6., 9., 12., 21. napon. Eddig az IgA, IgG, és IgM értékeket nem határozták meg normális könnymintából egészséges szemű lovakban.

3. táblázat: Mért IgA, IgG és IgM szintek 450 nm-en, U/ml

IgA	0.nap BAL	0.nap JOBB	3.nap BAL	3.nap JOBB	6.nap BAL	6.nap JOBB	9.nap BAL	9.nap JOBB	12.nap BAL	12.nap JOBB	21.nap BAL	21.nap JOBB
1. Ló	0,622	0,571	0,223	0,451	0,421	0,558	0,255	0,544	0,433	0,602	0,479	0,556
2. Ló	0,582	0,63	0,304	0,579	0,724	0,567	0,443	0,556	0,378	0,595	0,475	0,612
3. Ló	0,411	0,447	0,362	0,507	0,452	0,544	0,447	0,413	0,447	0,518	0,42	0,466
4. Ló	0,633	0,438	0,671	0,382	0,74	0,525	0,642	0,373	0,577	0,404	0,597	0,323
5. Ló	0,778	0,708	0,622	0,715	0,62	0,653	0,475	0,636	0,458	0,631	0,085	0,077
6. Ló	0,397	0,471	0,139	0,321	0,343	0,386	0,28	0,414	0,313	0,475	0,251	0,501
7. Ló	0,336	0,353	0,458	0,204	0,674	0,416	0,533	0,378	0,613	0,415	0,35	0,325
8. Ló	0,237	0,348	0,386	0,552	0,429	0,608	0,387	0,535	0,278	0,455	0,366	0,336

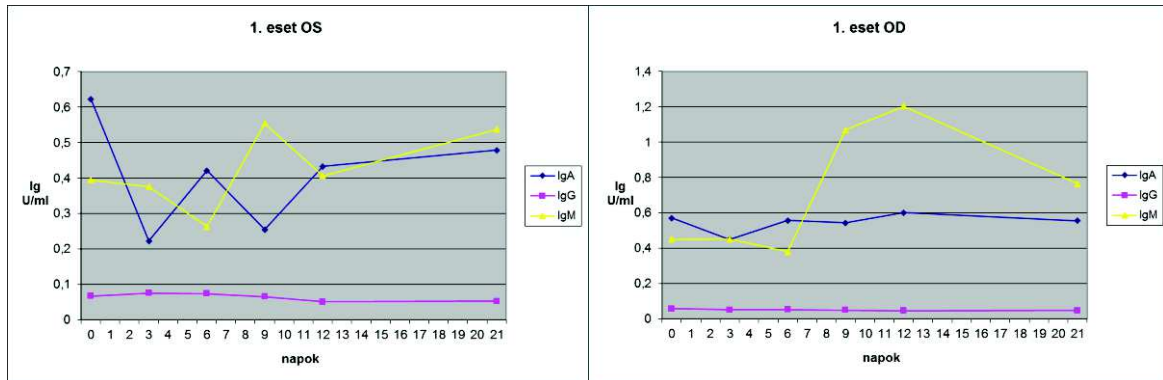
IgG	0.nap BAL	0.nap JOBB	3.nap BAL	3.nap JOBB	6.nap BAL	6.nap JOBB	9.nap BAL	9.nap JOBB	12.nap BAL	12.nap JOBB	21.nap BAL	21.nap JOBB
1. Ló	0,067	0,058	0,076	0,051	0,074	0,054	0,066	0,05	0,051	0,047	0,053	0,049
2. Ló	0,062	0,078	0,072	0,052	0,059	0,097	0,07	0,055	0,069	0,049	0,055	0,056
3. Ló	0,073	0,08	0,31	0,055	0,068	0,049	0,053	0,054	0,097	0,053	0,058	0,05
4. Ló	0,057	0,068	0,06	0,059	0,046	0,055	0,05	0,061	0,056	0,049	0,06	0,053
5. Ló	0,046	0,046	0,064	0,046	0,156	0,118	0,048	0,06	0,056	0,046	0,051	0,054
6. Ló	0,047	0,044	0,082	0,052	0,06	0,045	0,051	0,056	0,056	0,053	0,049	0,055
7. Ló	0,051	0,06	0,057	0,114	0,118	0,077	0,065	0,052	0,062	0,065	0,065	0,075
8. Ló	0,063	0,053	0,095	0,069	0,068	0,082	0,093	0,146	0,115	0,105	0,059	0,087

IgM	0.nap BAL	0.nap JOBB	3.nap BAL	3.nap JOBB	6.nap BAL	6.nap JOBB	9.nap BAL	9.nap JOBB	12.nap BAL	12.nap JOBB	21.nap BAL	21.nap JOBB
1. Ló	0,395	0,45	0,376	0,452	0,263	0,381	0,554	1,069	0,407	1,204	0,537	0,765
2. Ló	0,432	0,396	0,377	0,277	0,297	0,343	0,303	0,434	0,37	0,622	0,634	0,591
3. Ló	0,321	0,31	0,237	0,307	0,233	0,368	0,185	0,367	0,226	0,365	0,238	0,306
4. Ló	0,326	0,497	0,352	0,32	0,431	0,395	0,322	0,275	0,326	0,268	0,33	0,326
5. Ló	0,397	0,488	0,301	0,416	0,279	0,391	0,226	0,348	0,21	0,433	0,063	0,066
6. Ló	0,201	0,257	0,405	0,182	0,123	0,142	0,114	0,138	0,186	0,18	0,136	0,356
7. Ló	0,186	0,185	0,6	0,375	0,115	0,794	0,683	0,372	0,534	0,276	0,734	0,56
8. Ló	0,085	0,245	0,341	0,324	0,501	0,514	0,396	0,573	0,284	0,479	0,427	0,252

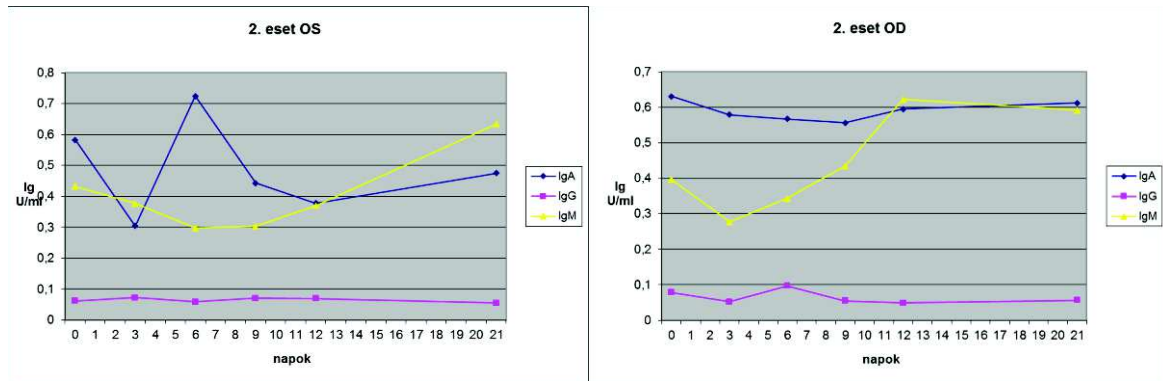
Az operált szemek adatai színnel kiemelve szerepelnek.

10. ábra: A könnyfilmből mért IgA-, IgG-, IgM-szintek grafikonjai

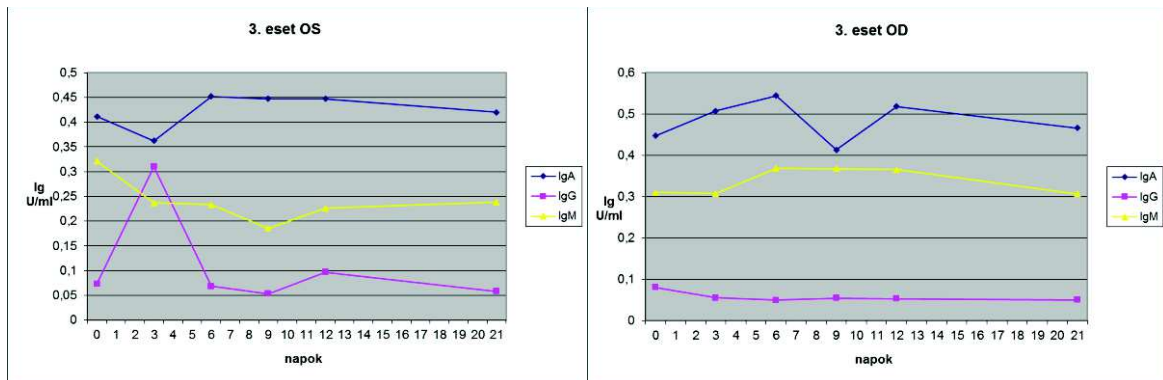
1. eset



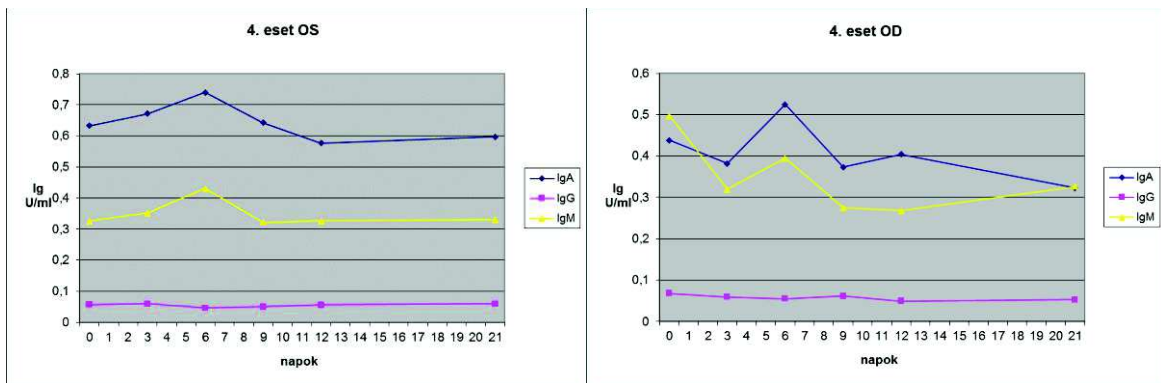
2. eset



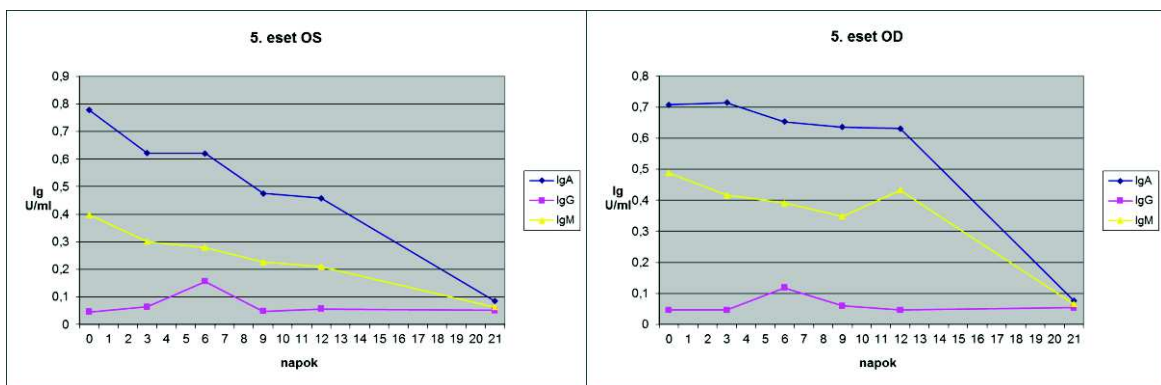
3. eset



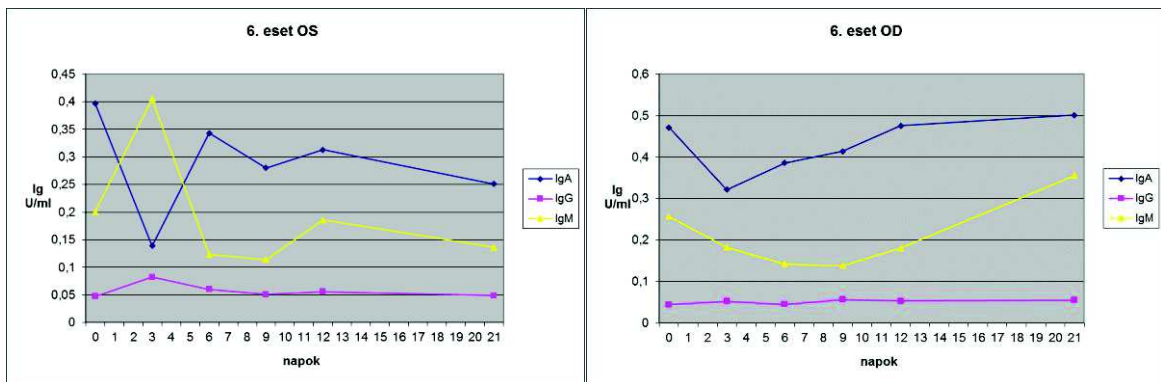
4. eset



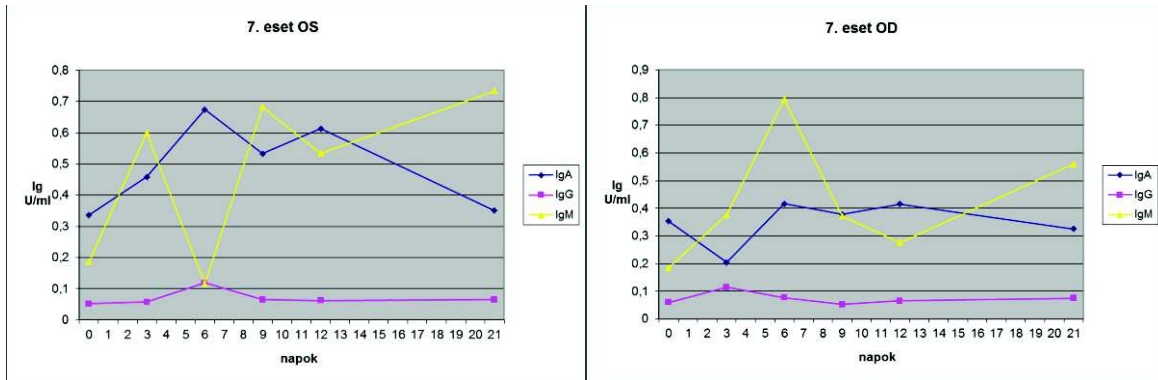
5. eset



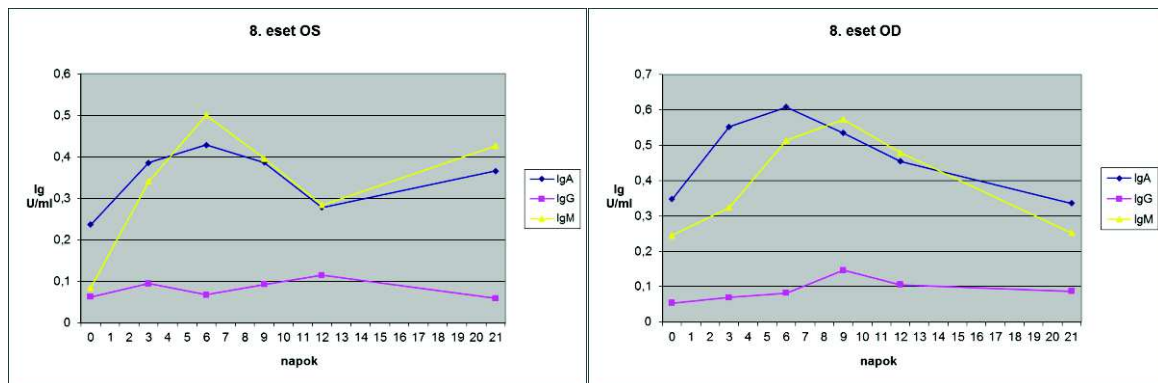
6. eset



7. eset

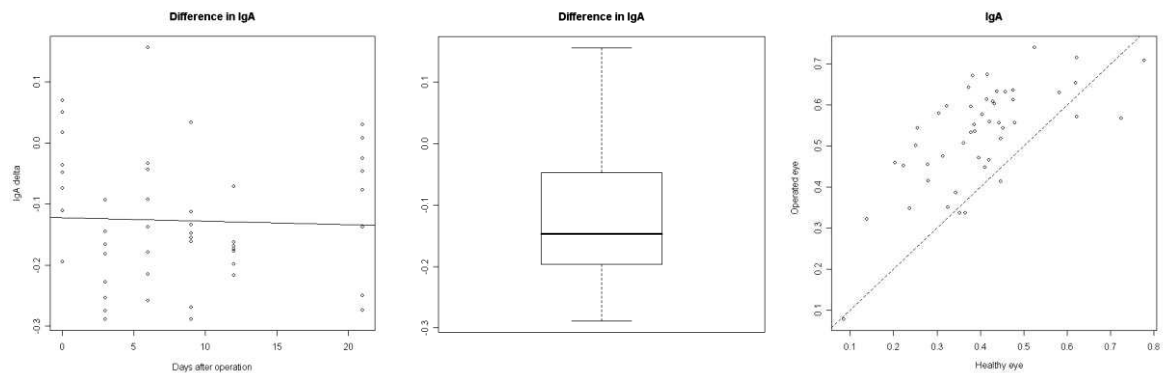


8. eset



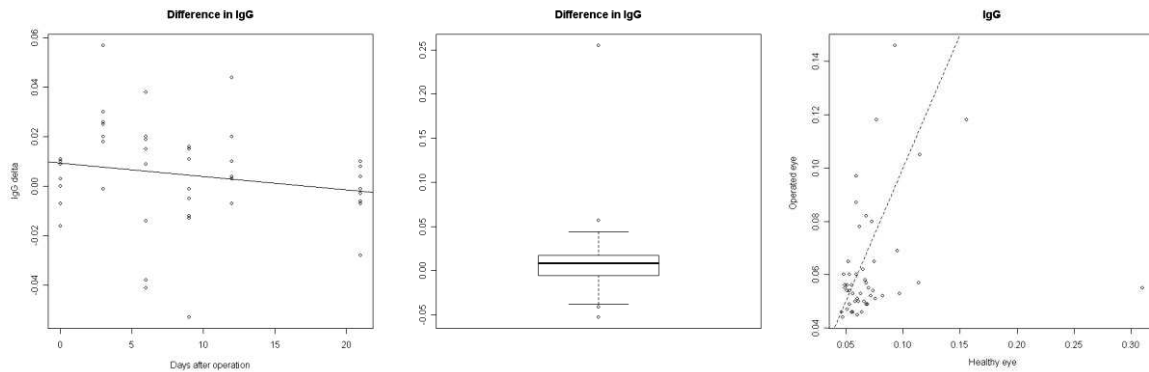
Statisztikai analízis

A vizsgált immunglobulinok tekintetében az operált és nem operált szemek könnymintáinak értékeit t-próbával hasonlítottuk össze. Az IgA vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású és a nem-operált szemek esetében szignifikánsan kisebb az érték ($p=0,001$), $\text{mean} \pm \text{SD} = -0,127 \pm 0,105$, $n=48$. Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($p=0,812$). (11. ábra)



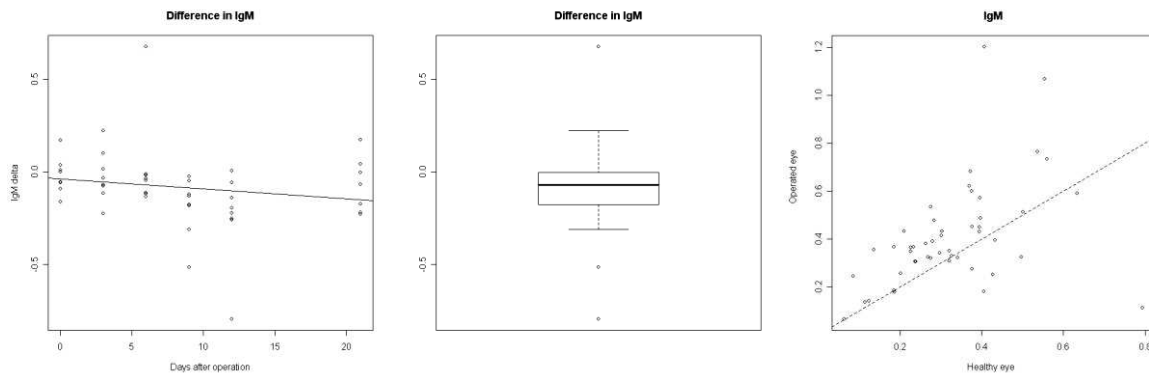
11. ábra: IgA értékek

Az IgG vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású, a különbség nem szignifikáns ($p=0,101$), $\text{mean}\pm\text{SD}=0,010\pm 0,041$, $n=48$. Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($p=0,221$). **(12. ábra)**



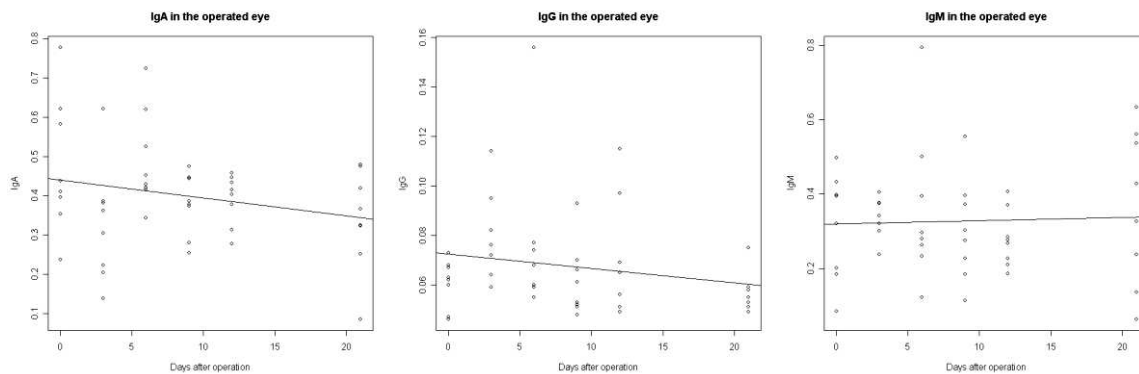
12. ábra: IgG értékek

Az IgM vonatkozásában a mért változók különbsége normális eloszlású, a nem-operált szemek esetében szignifikánsan kisebb az érték ($P=0,006$), $\text{mean}\pm\text{SD}=-0,084\pm 0,200$, $n=48$. Az idő függvényében nincs szignifikáns változás ($P=0,217$). **(13. ábra)**



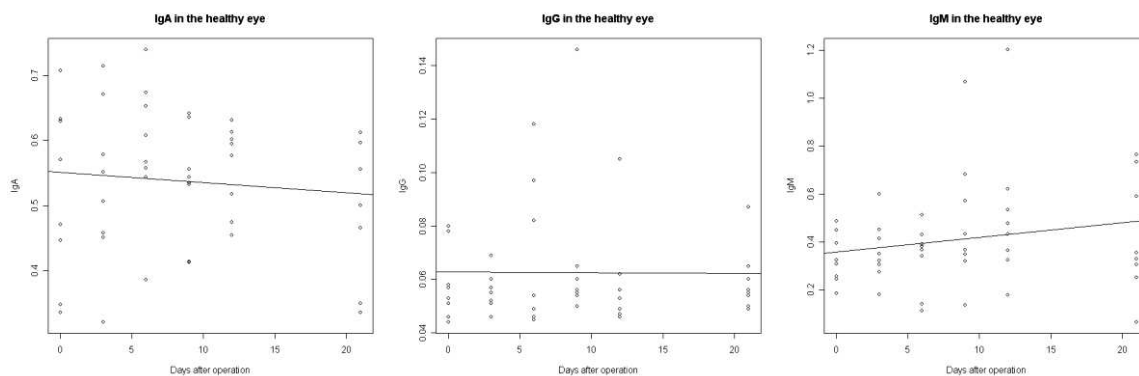
13. ábra: IgM értékek

Lineáris regresszió-analízist használtunk, amikor külön az operált, ill. nem-operált szemekben vizsgáltuk az ellenanyag szintek változását az idő függvényében. Egyik ellenanyagánál sem mutatkozott szignifikáns változás az idő függvényében az operált szemekben: IgA esetében $p=0,109$, IgG esetében $p=0,1929$, IgM esetében $p=0,7823$. **(14. ábra)**



14. ábra: Az operált szemek Ig értékei

Lineáris regresszióval a nem-operált szemekben sem volt szignifikáns változás az értékekben az idő függvényében. IgA esetében $p=0,513$, IgG esetében $p=0,9566$, IgM esetében $p=0,1873$. (15. ábra)



15. ábra: A nem-operált szemek Ig értékei

Az operált és nem-operált szemek esetében is alacsonyabb az IgG szintje a könnyben, mint az IgA és IgM szintek.

A statisztikai elemzés során a 3. ló 3. napi adatát elhagytuk, mert torzító pont volt a kiugróan magas érték az IgG vonatkozásában. Szintén elhagytuk az 5. ló 21. napi IgA értékét, mert torzító pont volt az alacsony érték.

3.4 Megvitatás

Az elhullás után 24 órán belül kinyert, majd 48 órán belül felhasznált friss corneák mellett fagyasztott és szövettároló folyadékban konzervált szaruhártyákat is használtunk PK műtétekhez. Megfelelően beépült graftokat kaptunk, azonban mindegyik átlátszatlan lett. Az 1-5. esetben tartósított corneát, a 6, 7. esetben friss corneát, a 8. esetben fagyasztott corneát ültettünk be. A gyakorlatban legkönnyebben hozzáférhető és legolcsóbb tárolási technika a corneák fagyasztva tárolása, ami lehetővé teszi, hogy egy klinikán a fagyasztott szaruhártyák mindig rendelkezésre álljanak. Eseteink közül a 7. eset tekinthető a klinikailag legjobb kimenetelűnek, melynél az elhullott donor ló szaruhártyáját 1 órán belül friss graftként használtuk fel és a varrást USP 8-0 nylon fonállal végeztük. A posztoperatív klinikai vizsgálatok alapján a különbözőképpen tárolt cornea graftok hasonlóan viselkedtek a beépülés során és megtekintéssel egyformának tűntek már az első 1-2 hét után.

Mindegyik PK műtét sikeresnek tekinthető, mert a graftok jól beépültek a recipiens szaruhártyába. A 6. esetben használt egyszerű csomós és tovafutó varrat kombinációja biztonságosnak bizonyult a graft rögzítésére és kevésbé irritáló a csomók kevés száma miatt, azonban az egyszerű csomós varratok alkalmazása a legbiztonságosabb rögzítési technika PK műtéteknél lóban. Különösen, ha a graft bevarrása fertőzött szaruhártyába történik. A fertőzött corneák PK műtéteinek ugyanis egyik leggyakoribb posztoperatív komplikációja a varratelégtelenség. A fel nem szívódó fonalat (USP 8-0 nylon, 6-8. eset) nem távolítottuk el, mert nem okozott diszkomfortot a szemben és nem befolyásolta a látást. A monofil nylon varratok kisebb irritációt okoznak a multifil felszívódó varróanyagokhoz képest, amelyet még nagyfokban csökkenthet, ha a csomók a varratvégekkel a cornea szövetébe vannak beforgatva.

Saját tapasztalataink alapján a sebészi technika hiányosságai (mint például a nem megfelelő graft manipuláció, túl felületes vagy perforáló öltések) és a posztoperatív menedzsment meghatározó elemek a műtét sikeres kimenetelében, amelyek miatt nagyobb heggedéssel gyógyulhat a műtéti terület. A felületi és szisztémás antibiotikum és antimikotikum, felületi mydriatikum, cycloplegikum és NSAID szisztémás adása akár heteken keresztül elengedhetetlen a sikeres gyógyulási folyamathoz. A PK műtéten átesett páciensek szemét szoros kontroll alatt tartva rendszeresen ellenőrizni kell, hogy a korai komplikációkat és a másodlagos uveitis kezdeti tüneteit felismerjük. Lovakban a szaruhártya betegségekhez társuló másodlagos anterior uveitis a n. trigeminushoz köthető érző-ideg-irritáció eredménye, amit axon-reflex-aktivációnak neveznek és a szivárványhártya-sugártest következményes gyulladást váltja ki. Fontos, hogy a szemkörnyék dörzsöléséből származó és az SPL károsodásával járó sérüléseket kivédjük szemvédő sapka vagy háló használatával a műtét utáni napokban.

Az immunrejekció klinikai megnyilvánulása a graft elhomályosodása, infiltrációja. Ezen tanulmány alátámasztja korábbi tanulmányok eredményeit, miszerint lovakban a cornea graft erezettsége, sejtes beszűrődése és ödémája, később fibrosisa bizonyos mértékű pigmentációval a graft beépülés velejárói. (2; 17) A kísérletben résztvevő lovak szaruhártyája a PK előtt teljesen egészséges, átlátszó és érmentes volt, így a graftkilökődésre minimális volt az esélyük. A felhasznált friss vagy szövettároló folyadékban tárolt donor graftedok pedig életképes, ép endotheliummal rendelkeztek. Mindazonáltal egyik esetben sem maradt átlátszó graft műtét után. A műteteink után bizonyosságot nyert, hogy a PK-n átesett corneák ereződése fontos és szükségszerű a beépüléshez és minden műtött szemén megfigyelhető volt, amely folyamat hozzájárult mind a gyógyuláshoz illetve az immunológiai kitétséghez és következményes immunrejekcióhoz. Eredményeink a szaruhártya szöveti egységének megőrzésére és a látás megtartására sikeresnek bizonyultak.

Immunválasz

Amint a szaruhártya ereződik gyógyuláskor, a cornea immunstátusza is megváltozik, mivel CD4⁺ T-sejtek és később macrophagok, nyúlványos sejtek, immunglobulinok és a komplement rendszer aktiválódnak. (21; 37) A cornea immunválasza gyulladáshoz, ereződéshez és a donor szövet kilökődéséhez vezet, amely mindig a graft szélén kezdődik. Minél hosszabb idejű és intenzívebb a gyulladás, annál erősebb a kilökődés, mert több gyulladást termelő mediátor fokozza az immunreakciót. Az első néhány posztoperatív napban a mydriasis fenntartása atropinnal, a blepharospasmus súlyossága, és a cornea neovascularisatiojának intenzitása megfelelő paraméterek ahhoz, hogy megbecsüljük a kialakuló uveitis súlyosságát és a gyógyulás állapotát értékelni tudjuk.

Emberekben beszámoltak gombás és bakteriális keratitis esetén kivitelezett műtétek utáni átlátszó szaruhártyákról, habár a recipiens corneák a műtétkor már erezettek voltak. (6) A humán esetekkel ellentétben, a kísérletünkben az ép, átlátszó corneákba ültetett graftedok is mind elhomályosodtak a PK műtét után. Habár potenciálisan megelőzik az immunrejekciót és csökkentik a gyulladást, a felületi kortikoszteroidok használata mégis kontraindikált lovakban, mert használatukhoz köthető a fertőzött és kollagenolitikus keratitisek gyakori kialakulása. (9) Immunszuppresszív cyclosporin használata kedvező lehet a PK műtétek után, ha nincs fertőződés. (34)

Az IgA-t a plazmasejtek termelik a kötőhártyában és a fehérjemolekula átjuthat a kötőhártya epitheliumán. Az antigént agglutinációval és neutralizációval semlegesíti. Az IgA így csökkenti a mikrobák megtapadását és invázióját a cornea/conjunctiva epitheliumán. Az IgG alacsony koncentrációban van jelen normál körülmények között a könnyben és az

antigénnel való ismételt találkozáskor aktiválja a komplement rendszert és elősegíti a mikrobák makrofágok általi fagocitózisát. Az IgM nagy molakulatömegű és az elsődleges fertőződéskor termelődik és aktiválja a komplement rendszert.

Az egészséges emberi szem könnyében kimutathatók a komplement rendszer elemei, szabályozó fehérjék, ill. az IgG és IgM molekulák. (44) Az IgA- és IgM-szintek megemelkedése specifikusabb a graft kilöködésre nézve, de egyéb immunológiai reakciók (fertőzés miatt kialakult gyulladás) szintén hozzájárulhatnak a helyi immunglobulinok fokozott termelődéséhez. Eseteinkben a jelentős gyulladás miatt fokozódott a kötőhártya vérereinek permeabilitása és következményesen megemelkedett az IgM szint annak ellenére, hogy nagy molakulatömegű fehérjéről van szó.

Emberekben a keratoplasztika kimenetelében döntő jelentőséggel bír, ha a recipiens szaruhártya műtét előtt már vascularisalt. Ilyen esetekben nagyobb az esélye annak, hogy a graft később nem marad átlátszó. Feltételezhetően a lokális sejtes és humorális immunitás felelős a heveny illetve idült transzplantátum kilökődéséért PK műtét után. (27) A könnyfilm IgA- és IgM-szintjeinek emelkedése emberben előrejelzi az immunreakció klinikai tüneteit és jelzi az immunszuppresszív kezelés (helyi és szisztémás kortikoszteroid gyógyszerek) megkezdésének optimális idejét, ami a 12. posztoperatív nap körül van. Ha a könnyből mért emelkedett ellenanyagszint alapján az így előrejelzett időpontban megkezdik az immunszuppresszív kezelést, a reakció nem tud végbemenni. (6) Lovakban, amikor a PK műtét indokolt, akkor a szaruhártya már ereződött és műtét után is elkerülhetetlen a vascularisatio, ami meghatározza a helyi sejtes és humorális immunválaszt. A kísérletünk során mért IgG-szintek alacsonyabbak voltak az IgA- és IgM-szinteknél (**3. Táblázat**), ellentétben az embereknel mért értékekkel, ahol az IgM-nek volt alacsony alapszintje. Lovakban az IgG-nek volt alacsony alapszintje minden mintában, az IgA- és IgM-szintek időbeli változása nagy variabilitást mutatott. Az IgA és IgM esetében a nem operált szemekben kisebb értékek voltak mérhetőek. Az IgG esetében nem volt szignifikáns különbség az operált és nem operált szemek között. Az időbeli lefutásban nem volt különbség az egyes immunglobulin-szintekben sem az operált, sem a nem-operált szemeknél. Az Ig-szinteknek inkább egy egyedi mintázata volt jellemző mindkét szemnél az egyes lovakban. Az IgA- és IgM-szintek hasonlóan alakultak egy szemben belül. Néhány IgA csúcsot lehetett látni körülbelül a 6. nap táján, ami a lokális antigén stimulus eredménye és ezen IgA-szint jellemezheti leginkább a helyi immunaktivitást lóban, amely korábbinak tűnik, mint az emberekben mért növekedés a 12. nap körül. A helyi immunstimuláció és gyulladás miatt növekedhettek meg az IgM- és IgA-szintek a könnyben. Ugyanakkor az egyik szemben végzett sebészi stimuláció szerepet játszhat mindkét szem immunválaszának befolyásolásában. (6) Egy tanulmányban az MMP-2 magasabb koncentrációját mérték olyan

lovak egészséges ellenoldali szeméből, amelyeknek másik szemük fekélyes volt, mint a normál kontroll lovakban. (38) Ez egy központi vagy szisztémás szemre ható szimpatikus válaszreakció következménye lehet, amikor egy nyálkahártya-felületen kialakult gyulladás kiválthat egy leukocita migrációt egy addig érintetlen nyálkahártya területre és elindíthat egy válaszreakciót az ellenoldali kötőhártyához kapcsolódó lymphoid szövetben, ami végül az ott található limfocitákat aktiválja. (37) Nem volt jelentős különbség az egyes lovakat összehasonlítva a nagyon gyulladt és kevésbé gyulladt szemek immunglobulin-szintjei között. Ez azért lehetséges, mert a mérési technika nem volt elég érzékeny, így egyéb gyulladásos fehérjék is jelen lehettek a könnymintákban, míg a valós immunglobulin-szintek megközelítőleg kerültek meghatározásra.

A különféleképpen tárolt graftok beépülési eredményeinek összehasonlítását megnehezíti, hogy különböző típusú varratok, varróanyag és utókezelés szerepelt a műtétek kivitelezésekor, ami a munka limitációját is jelenti.

4. Perforáló keratoplasztika alkalmazása szaruhártya tályog gyógykezelésére

4.1 Bevezetés

A szaruhártya tályogok gyógykezelése igen nagy kihívás a kezelő állatorvos számára és legtöbbször sebészi beavatkozást igényel. Lovakban eddig három fajta keratoplasztikát használtak ilyen esetekben a tályog méretétől és helyeződésétől függően. A perforáló keratoplasztikát (PK) a cornea teljes vastagságát érintő tályogok kimetszéséhez (SA), illetve két lamelláris keratoplasztikát a mély tályogok kimetszéséhez: posterior lamelláris keratoplasztikát (PLK) a szaruhártya centrális részén lévőkhöz, és a mély lamelláris endothelialis keratoplasztikát (MLEK) a limbushoz közelihez. (4, 12, 14, 34)

A cornea stroma tályog (SA) lovakban egy nagy jelentőséggel bíró szemészeti betegség, amely az addig egészséges szemet rendkívül fájdalmassá és akár vakká is teheti. (34) A SA kialakulhat egy kisebb szaruhártya sérülés következtében, amikor a gyógyulás során az epithel sejtek migrációja és záródása után a sérülés helyén mikroorganizmusok maradnak vissza a stromában. (22) A betegségnek két fő összetevője van: a szaruhártya elváltozás, amely gyulladós sejtek és sejtörmelék felhalmozódása fertőző ágens és idegentest jelenlétével vagy anélkül, illetve egy másodlagos uveitis, amely a szaruhártya elváltozáshoz társult. (5) Kórokozó ágensek nem minden esetben mutathatók ki kórszövettanilag, de a legtöbb esetben gomba vagy Gram-pozitív coccusok vagy Gram-negatív pálcák állnak a háttérben. Leírtak már steril szaruhártya-tályog kialakulást is lóban, ahol a kórelőzményben nem szerepelt trauma. (12) Klinikailag egy sárgás-fehér stroma infiltráció látható réslámpa-biomikroszkóppal, amihez szaruhártya-ödéma, neovascularisatio és iridocyclitis társul. (20) Ha a gyógyszeres kezelés önállóan nem hatékony, vagy a SA mélyen a strómában van vagy súlyos mértékű az iridocyclitis, sebészi megoldás szükséges. Így gyorsabb felépülés és jobb látóképesség várható. (22)

Jelenleg csak Amerikából származó publikációk és klinikai eseteírások érhetők el a témában. Habár lovak gombás keratitise és a cornea tályogok nem ritkák Európában, eddig mégsem írták le a PK használatát súlyos és komplikált esetekben. Az alábbiakban ismertetett három klinikai eset jó példája, hogy a látóképesség és a szegolyó megmentése céljából érdemes ezen műtéteket végrehajtani.

4.2 Anyag és módszer

A Szent István Egyetem Nagyállat-klinikájára 2010. és 2012. között 3 ló érkezett szaruhártya-tályog miatt ellátásra.

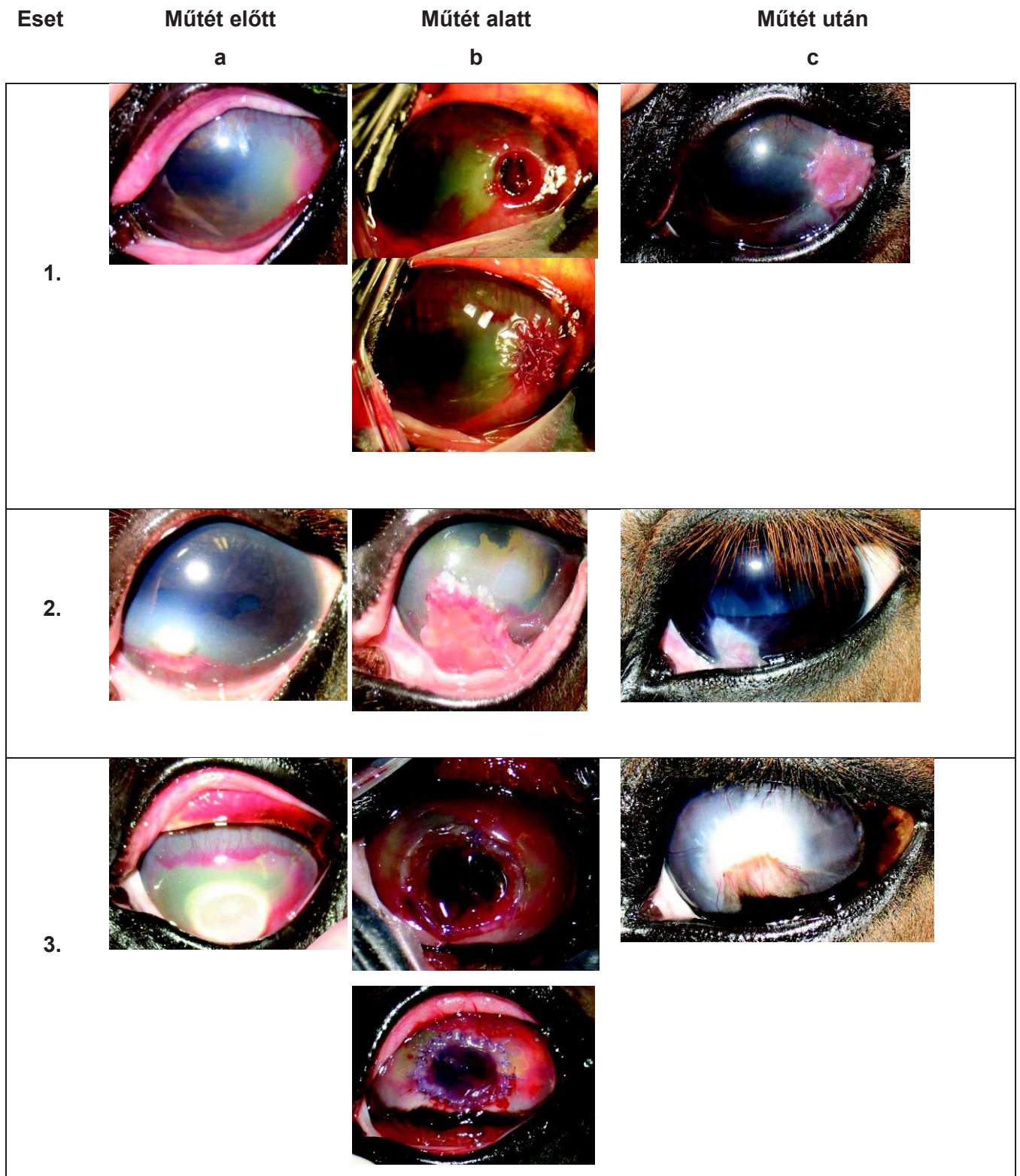
A lovak adatait az **4. táblázat** tartalmazza. Az 1. eset egy díjlovaglásra használt sport póni volt, a 2. és 3. esetek hobbi lovak voltak. Mindhárom lovat súlyos szemfájdalom és szaruhártya homály miatt szállították szemészeti vizsgálat céljából a klinikára. A tünetek a behozatal előtt 14-28 nappal kezdődtek. A lovak a beküldő állatorvos vizsgálata után számos különböző antimikrobiális és gyulladáscsökkentő kezelést kaptak, de javulás nem volt tapasztalható.

4. táblázat: A lovak adatai

Eset (klin. szám)	Ivar	Kor (év)	Fajta	Szem	Lézió helye	Lézió átmérője (mm)	Kiváltó ok	Műtét indoka
1. (5980)	Kanca	15	Holland póni	OS	Temporalis (4 óra)	6	Ismeretlen	Perzisztáló uveitis, lézió mélysége
2. (6601)	Kanca	8	Magyar félvér	OS	Nasalis (8 óra)	8	Trauma, fekély	Lézió mélysége
3. (7313)	Herélt	11	Magyar félvér	OS	Ventralis (6 óra)	15	Ismeretlen	Lézió mélysége, uveitis romlása

Klinikai vizsgálat

A klinikára érkezéskor mindhárom lónál súlyos blepharospasmus és könnyezés volt látható a bal szemén (OS). A direkt pupilla fényreflex (PLR) és a fenyegetési reflex megtartott volt mindkét szemén (OU), kivéve a 3. esetnél, amikor csak a PLR volt kiváltható a bal szemén (OS), a fenyegetési reflex nem volt kiváltható. Az érintett szemeket réslámpa-biomikroszkóppal és direkt oftalmoszkóppal vizsgáltuk, amely során az egyes lovak bal szemén 6-15 mm átmérőjű körülírt sárgás-fehér területet láttunk a szaruhártyán, amely a cornea teljes vastagságára kiterjedt. A corneák nem festődtek fluoresceinnel. A szaruhártya tályog az elülső szemcsarnokba is beterjedt a 3. esetben, ezért az iridocyclitis következményeképpen súlyos fokú hypopyon és miosis volt tapasztalható. A lencse és a posterior szegmens, illetve az ellenoldali szemek egészségesek voltak. Mindhárom lónál a szaruhártya teljes vastagságára kiterjedő körülírt cornea tályogot és egyidejű iridocyclitist diagnosztizáltunk a bal szemén. **(16. ábra)**



16. ábra: Klinikai állapot

Posztoperatív képek: 1c - 1 hónap; 2c - 18 hónap; 3c - 3 hónap.

Műtéti gyógykezelés

A lézió sebészi kimetszését annak szaruhártyában lévő mélysége, kiterjedtsége és a gyógyszeres kezelés ellenére perzisztáló másodlagos uveitis indokolta mindhárom esetben. Mindegyik ló az alábbi kezelést kapta a műtét előtt: penicillin-streptomycin (Tardomyocel Comp. III. inj. IM), flunixin meglumin 1,1 mg/kg IV. A klinikán használt ASA 1 rizikócsoporthoz tartozó páciensnél alkalmazott szedációt (acepromazin 0,03 mg/kg, xylazin 1 mg/kg, butorphanol 0,05 mg/kg), indukciót (ketamin 2,2 mg/kg, diazepam 0,05 mg/kg) és fenntartást (izoflurán 1,5-4 ET v/v% oxigén vivőgázban) használtunk a PIVA-t kiegészítve medetomidin 3,5 µg/kg/h folyamatos cseppinfúzióval. Felületi premedikáció: atropin (2% Atropin szemcsepp FoNoVet ed. IV.) és klóramfenikol (Klóramfenikol 0,5% szemcsepp FoNoVet ed. IV.).

Általános anesztéziában a beteg szemet a már korábban ismertetett módon rutinszerűen előkészítettük, majd egy cornea caliperrel lemértük a tályog méretét. A tályog átmérőjénél 1 mm-rel nagyobb, kör alakú, a stroma mélységének két-harmadáig terjedő metszést ejtettünk a lézió körül Franchesetti-féle cornea trepánnal. A 3. esetben a lézió nagy kiterjedése miatt (15 mm) először szabadkézi bemetszést ejtettünk szikepengével (No. 11), majd cornea ollóval metszettük ki a tályogot. A cornea neovascularisatioja miatti stroma vérzést felületi epinephrinnel csillapítottuk (Tonogen 1 mg/ml oldatos inj., Richter Gedeon). A cornea legalsó rétegét hegyes szikepengével (Beaver blade No. 65) metszettük be, így megnyitva az elülső szemcsarnokot. Viszkoelasztikus anyagot (nátrium-hyaluronát, 10 mg/ml, Hylartin V 2ml, Pfizer vagy I-Visc®Vet 2ml 1,8%, I-MED Pharma Inc.) fecskendeztünk a bemetszésen keresztül az elülső szemcsarnokba. A továbbiakban jobb illetve bal oldali cornea ollóval metszettük ki a körülhatárolt korong alakú területet a szaruhártyából.

Az 1. esetben a donor cornea friss cadaverből származott, a teljes szemgolyót a műtét idejéig nedveskamrában 4°C-on tartottunk 1 napig a műtét előtt. A 2. és 3. esetben mélyfagyasztott szemgolyók szolgáltak donorként, melyeket a felhasználásig -20° C-on tartottunk, majd a műtét előtt szobahőmérsékleten olvasztottunk fel. A donor szemekből az ephelium felől teljes vastagságban 1 mm-rel nagyobb területet metszettünk ki a corneából, mint a recipiens ágy átmérője. A donor cornea korongot az epheliummal felfelé ráhelyeztük a korábban kimetszett tályog helyére, majd egyszerű csomós varratokkal rögzítettük USP 6-0 felszívódó varróanyaggal (polyglactin 910, Vicryl 6-0, Ethicon). Az első 4 varratot – az óra számlapját alapul véve – 6-, 12-, 3-, és 9-óra pozícióban kell beöltetni a stroma mély rétegéig, a Descemet membránig majd minden negyedlet további csomós varratokkal zárni. A viszkoelasztikus anyagot nem mostuk ki az elülső szemcsarnokból. A varrás végén a csarnokvíz seben keresztüli szivárgását Seidel-teszttel ellenőriztük. A műtéti területet nyelés kötőhártya-lebennyel fedtük a 2. esetben, amikor a ventralis bulbaris kötőhártyából

preparáltunk fel egy vékony lebenyft. Mindegyik esetben subconjunctiválisan 1 mg atropin-szulfátot (Atropinum sulfuricum 1 mg/ml oldatos inj. Egis) injektáltunk a dorso-temporalis bulbaris kötőhártya alá, majd a felső kötőhártya fornixba, a felső szemhéj alá egy subpalpebralis drént (SPL, Equivet ocular lavage 8 Fr kit, Kruuse) helyeztünk, amelyet a felső szemhéj bőréhez és a homlokhoz is 2-2 csomós varrattal rögzítettünk. Ideiglenes tarsorrhaphiát alkalmaztunk 2 horizontális U-varrattal a laterális szemhéjszéleken a 3. esetben a műtét után 6 napig, hogy a műteti területet védjük.

A páciensekből kimetszett cornea darabot aerob baktérium- és gomba-tenyésztésre, antibiotikum érzékenységi tesztre és kórszövettani vizsgálatra küldtük a klinikánk patológiai laboratóriumába.

Posztoperatív kezelés és menedzsment

A műtét előtt megkezdett kezelést folytattuk posztoperatíván 6 napig. Szisztémás antibiotikus kezelést alkalmaztunk a feltételezhető bakteriális kórokok és a szemgolyó megnyitásának szükségessége miatt. Az SPL segítségével kivitelezett felületi kezelést kiegészítettük autológ szérum adásával, hogy a precorneális könnyfilm proteolitikus aktivitását csökkentjük, melyet a gyulladási folyamat és a sebészi manipuláció is fokoz. Az első héten szemvédő sapkát alkalmaztunk minden lónál. A lovak szemfelszínét naponta kétszer átmostuk 1%-os Betadine oldattal (povidon-jód komplex 10 mg/ml) az SPL-en, majd fiziológiás sóoldattal kiöblítettük a betadint a szemből. Natamycin tartalmú szemkenőcsöt QID (InfectoMyk Augensalbe, Infectopharm) használtunk az első 2 esetben, mivel gombás keratitist gyanítottuk a klinikai megjelenés és a gyorsan progrediáló kórfolyamat alapján. A flunixin adagját lassan csökkentettük, amint a szem egyre komfortosabbá vált, valamint tartós mydriasis és tiszta csarnokvíz volt látható. A felületi atropin kezelést csökkentettük, amint kialakult a mydriasis. A felületi klóramfenikol adagolását folytattuk 4-6 óránként 4 hétig, majd utána vagy csökkentettük az adagot vagy teljesen elhagytuk. A 2. esetben ciprofloxacint (Ciloxan 3 mg/ml oldatos szem- és fülcsepp, Alcon) adtunk a beérkezéstől kezdve, mert a kórelőzményben már több más antibiotikum szerepelt, és a későbbi antibiogram alapján a kórokozó érzékeny volt ciprofloxacinnal. A gyógyulási folyamat előrehaladtával minden lónál egyedileg csökkentettük a felületi kezelés intenzitását. Az első 7 napban, amint elkezdett tágulni a pupilla és a hypopyon csökkenni, erek tértek a graffhoz és csökkent a cornea borúsága (ödémája). Az 1. eset 25 napig, a 2. eset 12 napig, a 3. eset 6 napig kapott klinikai ellátást és naponta ellenőriztük a szem állapotát. A lovakat SPL-el adtuk haza, így a tulajdonos otthon is tudta folytatni a felületi kezelést (klóramfenikol/ciprofloxacinnal, atropinnal, szérummal, a 3. esetben 10% higított Aloe Vera oldattal: Aloe First, Forever Living Products). A kórházi távozás után a kezelő állatorvos ellenőrizte a szemeket heti vizsgálatokkal. Az SPL-en

végzett felületi kezelést az 1. eset összesen 38 napig, a 2. eset 28 napig és a 3. eset 42 napig kapta. Az átlagos felületi kezelési idő 36 nap volt. Az SPL-t a beküldő állatorvos távolította el, amikor abbahagyták a szem kezelését.

4.3 Eredmények

Műtét

A PK műtéti ideje 100, 70, 90 perc volt az 1-3. esetnél, az átlagos műtéti idő 86 perc volt. Ez hasonló egy korábbi tanulmányban közölt átlagos műtéti időhöz, ami 91 perc volt. (15) Komplikáció nem lépett fel sem a műtét, sem az utókezelés alatt egyik esetben sem.

Kórszövettan

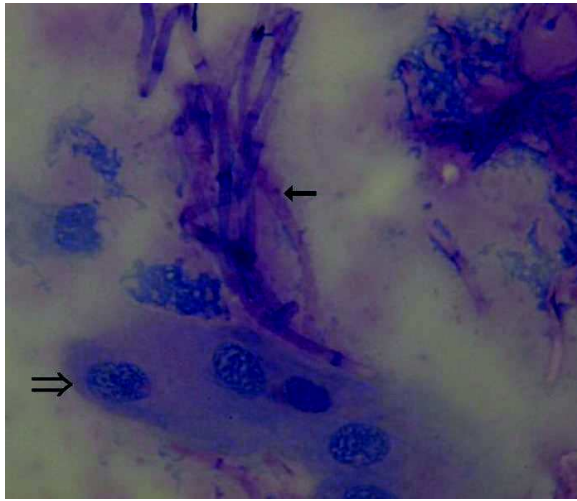
A keratectomiával kimetszett szövetrészek kifejezett keratitist mutattak, ahol a sejtes gyulladással elemek többfélék voltak, a suppuratívól a histiocytásig többféle képet mutattak.

Az 1. esetben a kórszövettan alapján az egész cornea epithelium, stroma és DM normális szerkezete felbomlott és diffúzan beszűrődött gyulladással sejtekkel: degenerált magelváltozásokat mutató neutrofil granulocytákkal, macrophágokkal és limphoid sejtekkel. A szövet mélyebb részeiben angiofibroblast proliferáció sok sejtes alakokkal volt megfigyelhető. Krónikus gyulladással sejtfelhalmozódás dominált, de sem idegentest, sem kórokozó ágens nem volt kimutatható hematoxin-eozin (HE) vagy PAS festéssel.

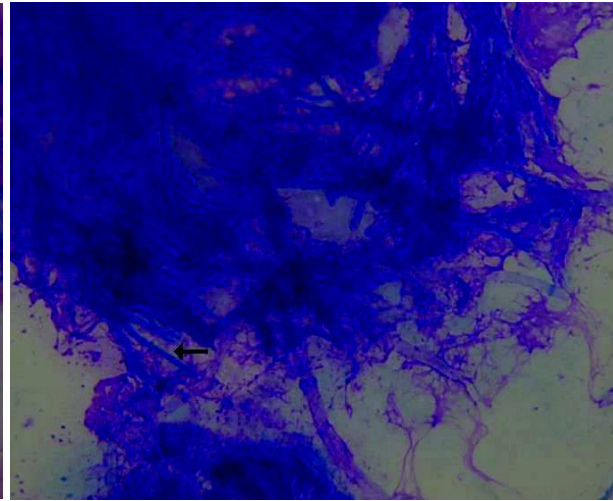
A 2. esetben a sejtű metszetben nagy mennyiségű neutrofil granulocytá volt látható, ezek jelentős része degeneratív magelváltozásokat mutatott, esetenként coccoid baktériumalakokat phagocytáltak. Mellettük nagyszámú mononuclearis phagocytasejt volt látható, ezek egy része szintén baktériumalakokat phagocytált, illetve változó mértékben differenciált laphámsejteket is meg lehetett figyelni. Az epithel sejtek esetenként nagyobb sejtcsoportokat alkottak, alacsony-közepes mértékű anisocytosis, anisokaryosis volt jellemző rájuk. Egy osztódó alak is előfordult közöttük. Gomba alakok a PAS-festett kenetben nem voltak láthatók. A diagnózis: idült gennyes keratitis hám dysplasia jeleivel volt.

A 3. esetben a mintában a cornea hám szerkezete több helyen felbomlott, benne súlyos fokú, mélyre terjedő elhalással gyulladással jelei voltak láthatók, a viszonylag épen maradt területeken diffúz, főleg neutrofil granulocytákat tartalmazó gyulladással beszűrődés volt megfigyelhető. A gyulladással sejtszaporulatban gombafonal részletek is előtűntek, illetve a cornea felületéhez lazán kapcsolódó képletben gombafonalak tömege volt látható. Baktériumalakok nem fordultak elő a mintában. A diagnózis: súlyos fokú heveny gombás

keratitis volt. A HE és Romanowsky-festéssel kimutatott gomba-hyphákat a **17. és 18. ábra** ábrázolja.



17. ábra: 3. eset
HE festés, 100x nagyítás,
gombahifa: ←
cornea epithel: =>



18. ábra: 3. eset
Romanowsky festés, 40x nagyítás
Aspergillus hyphák: ←

Bakteriológia

Aerob tenyésztéssel *Staphylococcus aureus* (1. eset) lehetett kimutatni, amely érzékeny volt klóramfenikolra. Béta-hemolizáló *Streptococcus equi* lehetett kimutatni a 2. esetben, mely érzékeny volt ciprofloxacinnra. Ezeket a baktériumokat gyakran izolálják lovak fertőzött keratitiséből (13). A harmadik esetben baktérium nem volt kitenyészthető. Anaerob baktérium tenyésztés nem történt a mintákból. Egyik mintából sem tenyészett ki gomba 48 órát követően.

Utánkövetés

A hosszútávú utánkövetést (3-18 hónap) a tulajdonosokkal és a kezelő állatorvosokkal folytatott telefonbeszélgetések jelentették. Mindhárom ló visszatérhetett a rendes munkába és továbbra is lovagolták őket, azonban tömör fibrosis maradt a graft helyén. Az 1. és 2. esetben megtartott fenyegetési reflex, tiszta csarnokvíz, a pupillák szimmetrikusan közepesen tágak voltak. Az 1. esetet több mint 3 éve kezeltük, és a lovat a PK műtét után egy évvel eladták Németországba díjlónak, így ezt a lovat nem tudtuk tovább követni. A 3. esetben a műtét célja a szemgolyó megmentése, az enucleatio elkerülése volt. Három

hónappal a műtét után nem volt szemfájdalom, csekély mértékű fényérzékelés az indirekt PLR alapján megmaradt, de a fenyegetési reflex teljesen hiányzott.

4.4. Megvitatás

Egy szaruhártya mikrotrauma után a cornea felületi rétege és az epithel seb gyorsan be tud gyógyulni, miközben mikroorganizmusok (a normális rezidens conjunctiva flórából vagy a kontaminációból), vagy idegentest rekedhet a szaruhártya belsejében. Ez azt eredményezi, hogy neutrofil sejtek jutnak a fertőződés területére és réslámpával is jól látható sejtes infiltrációt, elhomályosodást, borúságot, tályogképződést lehet látni. (34) Az eseteinkben csak a 2. esetről szerepelt egy korábbi szaruhártya fekély a kórelőzményben. A gombák nagy affinitással kötődnek a DM IV. típusú kollagén rostjaihoz, ezért a mély stromális tályogokat szinte mindig gombás eredetűnek kell tekinteni, még annak ellenére is, hogy nem mindig tudjuk kimutatni innen a gombákat. (18) Az egészséges szaruhártyában nincsenek vér- és nyirokerek, ezért a gyógyuláshoz szükséges erezettséghez idő kell. Így a neovascularisatio igen lassú, különösen a mély tályogok (SA) esetén, amelyek legtöbbször centralisan vannak és mélyen a stroma legsalsó rétegeiben. (4) Az aktivált neutrofil sejtek a lézióhoz vándorolnak, és további enzimatikus folyamatokkal súlyosbítják a stroma kollagén degradációját. (1, 14) A cornea érzőidegrostjainak irritációja (axon reflex), a mikrobiális toxinkibocsátás, és a gazdaszervezet leukocytái által termelt metabolitok miatt kialakul egy másodlagos heveny iridocyclitis is. Az így indukált szekunder iridocyclitis gyakori velejárója a fertőzött keratitiseknek lovakban, és nagy kockázatot jelent a szem belső struktúráinak károsodásában. A szaruhártya tályogok agresszív és intenzív kezelése gyakran 4 héttől 6 hónapig terjedhet. A sebészi gyógykezelés a tályog lokalizációja, az uveitis gyógyszeres kezelésének hatékonysága és a szaruhártya neovascularisatiojának intenzitása alapján indikált. (34) A leírt eseteinkben mindhárom lovat kezelték a klinikára való érkezés előtt, egyiknél sem volt javulás. A léziók elhelyezkedése és kiterjedtsége szintén indokolta a műtétet. A lovak PK műtétét a stroma tályogok kezelésére már korábban leírták és a humán szemészetből átvett technikákat alkalmazták. Így pozitív eredményeket kaptak a látás megőrzésében, ha a lézió debridementje mellett nyeles kötőhártya lebenyt alkalmaztak: 14/15; 93% látó szem az eredmény Hendrix cikkében és PK műtétekkel 8/8; 100% látó szemeket nyertek Whittaker beszámolójában. (22, 43)

Differenciál diagnózis

A differenciál diagnózis egy egyoldali szaruhártya stroma infiltráció és velejáró anterior uveitis esetén a következők lehetnek: fertőzött keratitis, cornea degeneráció, kalcium szalag

keratopátia (calcific band keratopathy), neoplázia, nem-fekélyes keratouveitis (NUKU), leukoma, granulációs szövet, parazitás fertőzés, corneális idegentest és eosinophil keratoconjunctivitis. (1) Eseteinkben a lézió helyeződése, heveny gyulladáshoz tartozó tünetek megléte és a hozzáférhető kórelőzményben a hiányzó tünetek miatt kizártuk a szaruhártya neopláziát, parazitás fertőzöttséget, granulációs szövetszaporulatot, leukomát, cornea degenerációt, és a cornea hegképződést is kevésbé valószínűvé. A fluoescein festődés hiánya kizárta a fekélyes szaruhártya-gyulladást és az eosinophil keratoconjunctivitist. Cornea tályog (SA) esetlegesen visszamaradt idegentesttel, maradt az egyetlen lehetséges differenciál diagnózis.

Az 1. esetben friss szemet tudunk használni donorként, a többi esetben mélyhűtött szemgolyót használtunk, ugyanis ezek mindig hozzáférhetőek a klinikán. A mélyhűtött szemgolyókat 6 hónapig lehet a fagyasztva tárolás után felhasználni. (11) A leggyakorlatiasabb tárolási mód, ha a teljes szemgolyó kinyerése után az egész szemet lefagyasztjuk és mélyhűtve tároljuk a felhasználás idejéig. Ekkor szobahőmérsékleten olvasszjuk ki a műtét előtt, és nem teljesen kiolvasszva könnyebben varrható. Az epithelium nagyon gyakran leválik a felhasználáskor vagy lamelláris graft készítésekor, így bemeneti kapuként szolgálhat a szemfelszínen további fertőzésekhez, illetve jobban ki van téve a graft a könnyfilm proteolitikus aktivitásának is. Ezért használtunk autolog szérumot a felületi kezelésben a műtét után, hogy gátoljuk a proteináz enzimaktivitást, a graft lágyulását. A donor graftot tartó laza varratok fokozzák a neovascularisatiót, a fertőződési lehetőséget és az immunrejekciót. A nyeles kötőhártya lebeny alkalmazásakor (2. eset), ahol a környéki szaruhártya jelentősen károsodott, a PK műtétek után biztosan lesz graft immunrejekció és átlátszatlan cornea, de szükségszerű, hogy a fertőzött környezetbe varrt graftot ezzel is megszilárdítsuk. A leírt eseteinkben sikerült friss, illetve mélyhűtött szaruhártyákat is felhasználni, amelyek egyformán épültek be az operált szemekbe.

A graft immunrejekciója és hegképződés elkerülhetetlen a ló PK műtétekben. Ahogy minden szaruhártya átültetésénél megfigyelhető, tipikusan a 3-5. napon a graft elkezd duzzadni, ami az immunrejekció jele. A gazdaszervezet részéről (a recipiensben) perifériás ereződés indul a graft irányába, ami a műtét utáni 5-7. napon látható először. Végül átlátszatlan és erezett heg alakul ki. Az uveitis a kilökődési reakció része, amely károsíthatja a szaruhártya rétegeit. A következményes gyulladás a szaruhártya átlátszóságának csökkenéséhez vezethet. (11) Eseteinkben rendkívül súlyos keratitis volt a műtétre került lovakban, a kezelés ellenére súlyosbodó uveitis, és a felületes cornea is érintett volt mindhárom lónál, így PK műtétre került sor. A legsúlyosabb esetben (3. eset) a mély tályog miatt súlyos iridocyclitis alakult ki, mely tünete a hypopyon és a szűk pupilla. **(16. ábra)**

A műtét után a klinikai kép alapján és a kimetszett tályog citológiai és kórszövettani vizsgálata után azonnal felületi gomba ellenes kezelést kezdtünk. Jelenleg SPL-en keresztül történő kezelésre alkalmas antimikotikus oldatos szemcsepp nem szerezhető be Magyarországon, ezért a patikai forgalomban elérhető natamycin tartalmú szemkenőcsöt használtuk. A szisztémás antifungális kezelés is megfontolandó ilyen súlyos gombás szaruhártya elváltozások kezelésében a műtét után, de a kezelés igen költséges, így általában a páciens tulajdonosa nem veszi igénybe. A kimetszett tályogok kórszövettani vizsgálata megerősítette, hogy az 1. és 2. eset bakteriális, a 3. eset gombás kórokú tályogképződés volt, így az intenzív és gyakori antimikrobiális és antimikotikus kezelés indokolt volt. A fertőzött keratitis bakteriális, gombás vagy kevert minőségét mind a tenyésztéses, mind a citológiai vizsgálat szolgálhatja, a kettő eredményét együttesen értékeltük a diagnózis felállításában. Az eseteinkben az átlagos gyógyulási idő 36 nap volt, rövidebb, mint egy tanulmányban, ahol 8 lovon végeztek PK műtétet cornea tályog miatt és a teljes gyógyulási idő átlagosan 57 nap volt. (43) A legnagyobb esetszámot leíró publikációban (206 eset) az átlagos gyógyulási idő $46,7 \pm 23,1$ nap volt. (14) Az 1. és 2. esetben sikeresen látó és nyugodt szemek maradtak. Jó gyógyulásról és a látóképesség megőrzéséről számol be több publikáció is, a PK-val műtött esetek 75%, 100%, 77,9%-a látott a műtét után. (9, 43, 14) A legnagyobb esetszámokat leíró tanulmányok felsorolják a PK műtét leggyakoribb komplikációit, amelyek hozzájárulnak a kezelés elnyúlásához és bonyolítják az utókezelést. Ezek a szaruhártya fekélyesedése vagy lágyulása, a corneaseb varratelégtelensége vagy a csarnokvíz szivárgása, amelyek újabb műtétet tesznek szükségessé. Az irodalomban említett további szövődmények lehetnek: másodlagos fertőzés a műtėti területen, synechiák kialakulása, fokális nem-progresszív cataracta kialakulása, intraoperatív lencsetok sérülés, vakság a cornea hegesedése miatt, a szemgolyó sorvadása (phthisis bulbi), vagy a pupilla elzáródása (pupilla oclusio). (10, 14, 17)

Az előbb ismertetett három -gyógyszeresen nem gyógyítható- esetben a cornea allograft transzplantáció segítette megmenteni a látást és a szemgolyókat. Nem tudunk adni szisztémás antimikotikus kezelést a 3. esetben, ahol ez indokolt lett volna, viszont kipróbáltuk a 10%-os aloe vera oldat felületi szemcseppes kezelést posztoperatívan, amely használatát nem említik korábbi tanulmányok. A szaruhártya SA a lovak egy komoly szemészeti megbetegedése. A legtöbb esetben az adekvát kezelést a műtét jelenti, ami a keratoplasztika valamely fajtája. A cornea transzplantáció egy nagyon hasznos műtėti technika a lószemészetben, sikeres alkalmazásának bemutatása hozzájárulhat elterjedéséhez. A műtét eredményeképpen nemcsak a szemgolyót, hanem legtöbb esetben a látást is sikerül megmenteni és lerövidül a kezelési idő is.

5. Perforáló keratoplasztika tapasztalatai klinikai esetekben

5.1 Esetleírások

A SZIE ÁOTK Lógyógyászati Klinikáján 2013. és 2016. között hat ló került PK műtetre bakteriális és/vagy gombás szaruhártya-gyulladás, ill. -perforáció miatt. A lovak adatait az **5. táblázat** tartalmazza.

5. táblázat: A lovak adatai

Eset (klin. szám)	Ivar	Kor (év)	Fajta	Szem	Lézió helye	Lézió átmérője (mm)	Diagnózis	Kórok
1. (7674)	Mén	7	Fríz	OS	Ventro-temporalis (4 óra)	8	ulcus corneae	Aspergillus sp.
2. (8022)	Herélt	16	Kisbéri	OD	Centrális	11	keratomy-cosis	penészgomba
3. (8107)	Mén	7	Fríz	OD	Centrális	10	ulcus corneae, descemetocele	Staphylococcus sp.
4. (8235)	Mén	7	Fríz	OD	Ventro-temporalis (8 óra)	8	ulcus corneae, perforatio	ismeretlen
5. (8908)	Kanca	13	Fríz	OD	Ventro-temporalis (8 óra)	3	cornea perforatio	feltételezett trauma
6. (9037)	Mén	5	Magyar sportló	OS	Ventro-temporalis (5 óra)	10	keratomy-cosis	penészgomba, coccoid baktérium

1. eset (19. ábra)

Kórelőzmény: A klinikára kerülést megelőzően 2 hete tapasztalták a bal szem könnyezését és a szemfájdalom következményeként kialakult blepharospasmust. A beküldő állatorvos dexametazon-tobramycin szemkenőccsel és flunixin injekcióval kezelte a lovat, a szem állapota nem javult.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

OS: direkt PLR, szemháj-, hunyorgási-, fenyegetési-reflexek megtartottak voltak. Súlyos blefarospasmus, közepes mennyiségű könnyezés illetve mucoid váladékozás volt látható a szemből, a kötőhártya enyhén kipirult volt. A corneán ventro-temporalisan (4 óránál) körülírt lencsényi sárgásfehér stromális infiltráció, mély árokkal az alsó részén, körülötte cornea-ödéma, perilibbalisan felületes vascularisatio volt látható. A csarnokvíz enyhén zavaros, a pupilla szűk (miosis) volt. Diagnosztikus pupillatágításra a pupilla kevésbé reagált, ezért a fundus oftalmoszkóppal nehezen vizsgálható, a látható terület ép volt. A cornea fluoresceinnel nem festődött. Felületi érzéstelenítés után citológiai mintavétel történt citobrush-al a szaruhártya elváltozott területéről.

Szaruhártya citológia vizsgálati lelet: A sejtdús kenetben homogén populációt alkotó cornea hámsejtek, túlnyomórészt szegmentált magvú neutrofil granulocytákból és kisebb arányban macrophagokból álló leukocyta-populáció volt látható. A neutrofil granulocyták nagy része degeneratív magelváltozásokat mutatott. A sejtek között szeptált, elgazódó gombafonal-töredékek voltak, egy részük neutrofil granulocyták által részlegesen phagocytaltan volt látható. Baktériumalakok intracellularisan nem voltak láthatók.

Szaruhártya mikrobiológiai vizsgálat lelet: gombatenyésztés: Aspergillus sp, baktérium nem tenyésztett ki.

Diagnózis: Aspergillus penészgomba okozta lágyuló keratitis; másodlagos anterior uveitis.

Gyógykezelés: 1 mg atropin-szulfát subconjunctivalis inj-ban adva, a felületi kezelés kivitelezése SPL-en az alábbi gyógyszerekkel: klóramfenikol, 1 % Betadine oldatos öblítés, EDTA, autolog szérum adása naponta 6x, natamycin tartalmú szemkenőcs adása 4x/nap, majd amfotericinB adása 6x/nap SPL-en keresztül. Szisztámásan adott 1,1 mg/kg flunixin IV. 5 napig. Egy hét intenzív kezelés után a lézió mérete nem csökkent, az uveitis súlyosbodott, a pupilla nem tágult. Általános anesztéziában PK műtétet végeztünk, mely során a laterális cantothomia után mélyfagyasztott 9 mm átmérőjű cornea graftot varrtunk a recipiens corneába USP 6-0 vicryl fonallal egyszerű csomós varratokkal és nyeles kötőhártya-

lebennyel fedtük. A szemhéjakat részlegesen zártuk horizontális matrac-varratokkal. A műtéti idő 70 perc volt.

Posztoperatív kezelés: az SPL-en folytattuk a korábbi felületi kezelést: klóramfenikol, atropin, amfotericinB, autológ szérum adása naponta 6x. Szisztémásan flunixin inj. IV., penicillin-streptomycin inj. IM. 5 napig alkalmazva. A ló négy alkalommal kapott 1 mg atropin-szulfátot subconjunctivalis inj-ban váltakozva a dorsalis és ventralis bulbaris kötőhártya alá. Az SPL varratokkal való ismételt rögzítése vált szükségessé a műtét utáni első héten. Az ideiglenes tarsorrhaphia megszüntetése a műtét utáni 3. napon történt. A műtét után 4 hét múlva a felületi kezelések fokozatos ritkítása után az SPL-t eltávolítottuk. Ekkor a kötőhártya lebeny intakt volt, enyhe blefarospasmus és könnyezés volt látható. A klinikán töltött napok száma 43 volt.

Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 4 héttel) az indirekt PLR megtartott volt, a fenyegetési reflex nehezen elbírálható, kétes volt.



műtét előtt

műtét alatt

műtét után (4 hét)

19. ábra: 1. eset

2. eset (20. ábra)

Kórelőzmény: A klinikára érkezés előtt 2 hete tapasztaltak a jobb szemén blefarospasmust, könnyezést. A beküldő állatorvos kezelte a szemet klóramfenikollal, fluconazollal, atropinnal, tobramycinnel és dexpanthenollal, a szem állapota romlott.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

OD: A direkt PLR nem kiváltható, az indirekt PLR megtartott, a hunyorgási és fenyegetési reflex nem elbírálható. A szemvizsgálat során közepes mértékű blefarospasmus, duzzadt szemhéjak; enyhén kipirult és ödémás kötőhártya, enyhe fokú könnyezés és sárgás-zselés váladékozás volt tapasztalható. A szaruhártyán centralisan ujjbegynyi területen megvastagodott sárgás, elhalásos plakk volt látható, amely a stroma mély rétegéig terjedt. A teljes cornea átlátszatlan, ödémás és infiltrált volt, a limbusnál vascularisatio volt látható. Kifejezett pupillaszűkület és hypopyon volt, illetve a plakk széli részein fluorescein pozitív festődés volt látható. Diagnosztikus pupillatágítás nem történt, a fundus szemtükörrel nem volt vizsgálható.

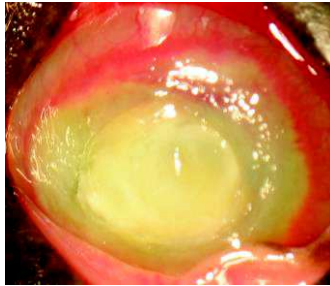
Szaruhártya citológia vizsgálati lelet: A sejtdús kenetben a nagy mennyiségű sejttörmelék mellett főként neutrofil granulocytákból álló sejtpopuláció volt látható. A granulocyták magja szegmentált, jelentős részük degeneratív sejtmag elváltozásokat mutatott. Mellettük kevés macrophag típusú sejt és corneális hámsejt volt megfigyelhető. Az említett sejtekből és törmelékből álló kisebb-nagyobb csoportokban, továbbá esetenként intracellulárisan nagyszámú gombafonal-részlet volt megfigyelhető. A gombafonalak hegyesszögben elágazódtak, szeptáltak. Baktériumalakok intracellulárisan nem voltak láthatók.

Szaruhártya mikrobiológiai vizsgálat lelet: kisszámú penészgomba volt kitenyészthető, baktérium nem tenyésztett ki.

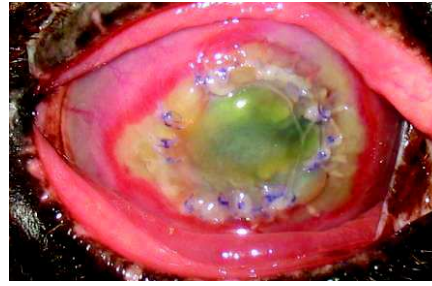
Diagnózis: Penészgombák okozta keratitis, másodlagos súlyos fokú anterior uveitis.

Gyógykezelés: Általános anesztéziában egy laterális cantothomia után PK műtétet végeztünk a jobb szemén, mely során egy 12 mm átmérőjű friss cornea graftot varrtunk a recipiens corneába USP 6-0 vicryl fonallal egyszerű csomós varratokkal. A műtét során 1 mg atropin-szulfátot subconj. injekció formájában juttattunk a szembe, majd egy SPL-t rögzítettünk a felső szemhéj alá és ideiglenes tarsorrhaphiát végeztünk. A műtéti idő 50 perc volt.

Posztoperatív kezelés: Szisztémás kezelésként adtunk flunixin inj-t IV, amoxicillin-klavulánsav inj-t IM 5 napig. Az SPL-en helyileg adtunk voriconazolt, klóramfenikolt, atropint, saját szérumot és EDTA-t naponta 6x. További kezelésként 2%-os Betadine oldatos öblítést végeztünk naponta 2x. 6 nap múlva megszüntettük a szemrészarást és 3 hét felületi posztoperatív kezelés után eltávolítottuk az SPL-t. A klinikán töltött napok száma 19 nap volt. Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 6 hónappal) az indirekt PLR megtartott volt, a fényérzékelés megmaradt, a fenyegetési reflex nem volt kiváltható.



műtét előtt



műtét alatt



műtét után (6 hó)

20. ábra: 2. eset

3. eset (21. ábra)

Kórelőzmény: A behozatal előtt 3 hete blepharospasmust, könnyezést tapasztaltak a jobb szemén. A beküldő állatorvos felületes keratitist diagnosztizált, diclofenac és gancyclovir szemkenőccsel kezelték a szemet. A kezelés ellenére romlott a szem állapota, súlyos fájdalom és váladékozás jelentkezett, a kezeléseket nem tudták folytatni.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

OD: A direkt PLR és fenyegetési reflex hiányzik, az indirekt PLR megtartott. Közepes mértékű blefarospasmus, enyhe-közepes mértékű könnyezés és mucopurulens váladékozás volt látható, a kötőhártya enyhén kipirult volt. A szaruhártya diffúzan ödémás, infiltrált és vascularisálódott volt. Centralisan ujjbegynyi területen a cornea lágyuló és kocsonyás volt, a ventralis területen elvékonyodott, itt descemetokele volt látható, a lézió széle festődött fluoresceinnel. Diagnosztikus pupillatágítás nem történt, a fundus oftalmoszkóppal nem volt vizsgálható.

Szaruhártya citológia vizsgálati lelet: A közepesen sejtű kenetben főleg szegmentált magvú neutrofil granulocyták voltak, ezek kb. 25%-a degeneratív magelváltozást mutatott, továbbá kevés macrophag típusú sejtek volt felismerhető. A fennmaradó sejtek nagy része corneális hámsejt volt, ezek kissé heterogén populációt alkottak, osztódó alakok nem voltak megfigyelhetők. A kenetben sok degenerálódott sejtek volt látható. A leukocyták között, ill. phagocytáltan coccus-, coccobacillus-alakok voltak láthatók csoportokban vagy önállóan. Gombafonal részletek nem voltak megfigyelhetők.

Szaruhártya mikrobiológiai vizsgálati lelet: Staphylococcus sp. volt kitenyészhető, gomba nem tenyésztett ki.

Diagnózis: Mély lágyuló bakteriális cornea fekély, descemetokele, súlyos fokú anterior uveitis.

Gyógykezelés: Az általános anesztéziában végzett PK műtét során a laterális cantothomia után egy 10 mm-es mélyfagyasztott cornea graftot ültettünk be a descemetokele területére. Nyeles kötőhártya lebenyt használtunk a teljes lágyuló szaruhártya területre. SPL-t ültettünk a dorsalis kötőhártya fornixba, ideiglenes tarsorrhaphiát végeztünk. Subconjunctivalisan adtunk 0,5 ml voriconazol, 1 mg atropin-szulfátot. A műtéti idő 100 perc volt.

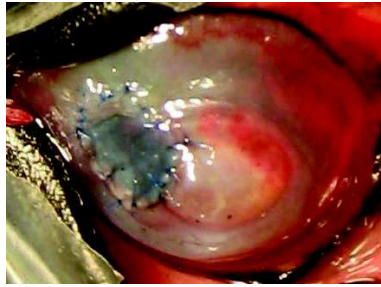
Posztoperatív kezelés: Szisztémásan adott flunixin inj. IV, SPL-en adott voriconazol, szérum, ciprofloxacín majd klóramfenikol, aloe vera szemcsepp naponta 6x. A műtét után 1 héttel

megszüntették a tarsorrhaphiát. Tíz nap múlva kivették a laterális cantothomia varratait, csökkentették a felületi kezeléseket, majd 3 hét elteltével kivették az SPL-t. A klinikán töltött nappok száma 20 volt.

Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 2,5 évvel) az indirekt PLR megtartott volt, a kötőhártya lebeny centralis része pigmentálódott.



műtét előtt



műtét alatt



műtét után (2,5 év)

21. ábra: 3. eset

4. eset (22. ábra)

Kórelőzmény: A klinikára szállítás előtt 4 nappal sérült a jobb szem, oxytetraciklin tartalmú szemkenőccsel kezelték.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

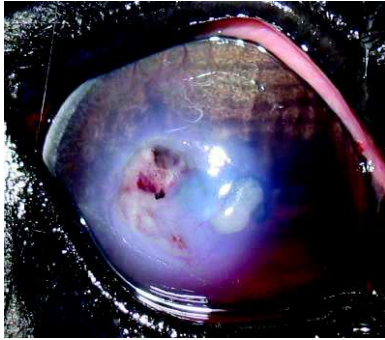
OD: Az indirekt PLR megtartott volt, a fenyegetési és hunyorgási reflex nem volt elbírálható. Közepes mértékű blefarospasmus, enyhe könnyezés és enoftalmus, közepesen kipirult kötőhártya volt látható. A pupilla szűk volt. A szaruhártyán kb. 8 óránál ventro-temporalisan lencsényi fekély volt látható, amely floresceinnel festődött és a stroma fele mélységéig terjedt. Csekély mértékű vascularisatio és cornea ödéma volt látható. Diagnosztikus pupillatágításra a pupilla nem reagált, a fundus oftalmoszkóppal nem volt vizsgálható. Beérkezés után adtunk felületileg klóramfenikolt, atropint, voriconazolt és saját szérumot szemcseppben naponta 4x. A kezdeti enyhe javulást követően a kötőhártya kipirultabb lett, súlyos blefarospasmus és szemhéjduzzanat jelentkezett. A fekély területén a szaruhártya lágyuló és elvékonyodott volt, a csarnokvíz szivárgott, az iris előesett, hyphaema volt látható. A corneából citológiai vagy mikrobiológiai vizsgálatot ekkor nem végeztünk.

Diagnózis: Lágyuló fekélyes keratitis, majd cornea perforáció, iris prolapsus és anterior uveitis.

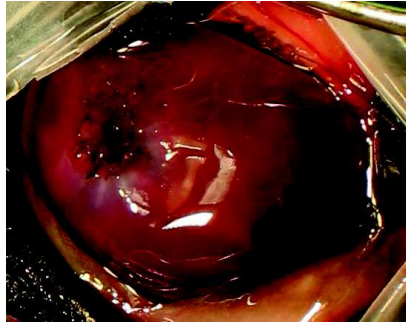
Gyógykezelés: A megkezdett kezelés utáni 3. napon általános anesztéziában a PK műtét során a laterális cantothomiát követően egy 8 mm-es mélyfagyasztott cornea graftot illesztettünk, majd rögzítettünk a perforáció helyére és nyeles kötőhártya fedést használtunk. A műtét során vérzés volt tapasztalható az elülső szemcsarnokban. Subconjunctiválisan 1 mg atropin-szulfátot injektáltunk és beültettük az SPL katétert. A műtéti idő 70 perc volt.

Posztoperatív kezelés: SPL-en keresztül adtunk klóramfenikolt, atropint, szérumot, voriconazolt naponta 4x. 5 alkalommal ismételtük az atropin subconjunctivális injekciót. Az SPL-t 4 hét után távolítottuk el. A műtét utáni időszakban a bal farizmokban jelentkező gázugrénás myositis miatt a ló kezelése elhúzódott, az intenzív klinikai kezelés meghosszabbodott. A klinikán töltött napok száma 40 nap volt.

Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 2 évvel) a pupilla közepesen tág, direkt PLR, hunyorgási és fenyegetési reflex megtartott volt, a műtéti terület helyén pigmentált kötőhártya lebeny és cornea heg látható.



műtét előtt



műtét alatt



műtét után (2 év)

22. ábra: 4. eset

5. eset (23. ábra)

Kórelőzmény: A klinikára érkezés előtt 1 héttel tapasztaltak a jobb szemén szemrészárast, könnyezést. A beküldő állatorvos a corneán kb. 8 óránál szaruhártya homályt látott, a cornea nem festődött fluoresceinnel, a pupilla szűk volt. Kezelték 1 hétig klóramfenikol tartalmú szemkenőccsel, tropicamiddal, de a szem állapota nem javult.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

OD: A pupilla szűk, indirekt PLR, szemhéj-, cornea-, hunyorgási-, fenyegetési reflex megtartott volt. Enoftalmus, enyhe blefarospasmus, kissé előesett pislogóhártya, enyhén kipirult kötőhártya, kevés könny és mucopurulens váladékozás volt látható a medialis canthusban. A corneán 8 óránál paracentralisan gyufafejnyi, kb. 3 mm-es kör alakú perforáció látszott, és iris prolapsus volt látható. Itt fibrin tapadt a cornea felületére, a perforáció körül kifejezett ödéma volt látható. A cornea perifériáján diffúzan ödéma és vascularisatio volt látható. A perforációból kinyúló fibrin fluorescein pozitív volt. Az elülső szemcsarnok szűk, a csarnokvíz enyhén zavaros volt. Diagnosztikus pupillatágítást nem végeztünk, oftalmoszkópos vizsgálat nem volt. Ultrahang vizsgálat: OD: 29 mm, a szemlencse és hátulsó szegmens kóros elváltozás nélküli volt. OS: 37 mm, kóros elváltozás nem látható, sine morbo. Citológiai vagy mikrobiológiai vizsgálat nem történt.

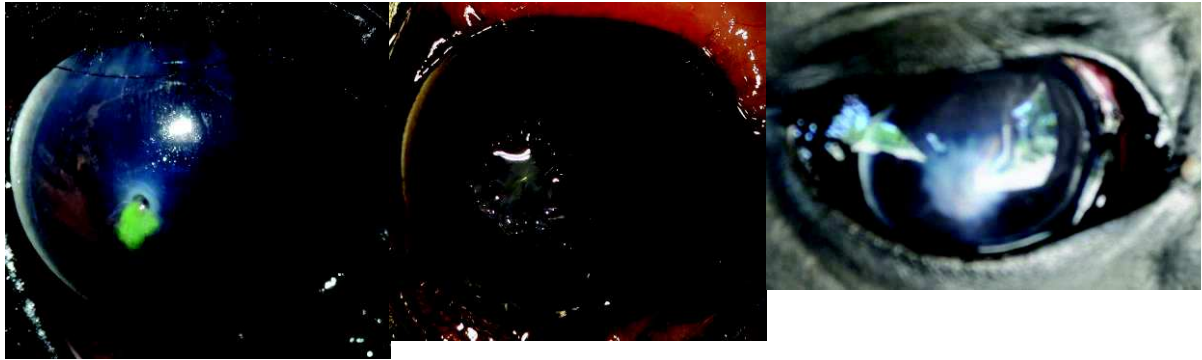
Diagnózis: Cornea perforáció, iris prolapsus

Gyógykezelés: Általános anesztéziában PK műtétet végeztünk, a cornea sérülést kimetszettük 7 mm-es kör alakban egy cornea trepánnal, majd egy 8 mm-es fagyasztva tárolt donor grafft varrtunk a recipiens corneába. Subconj. inj-ban atropin-szulfátot injektáltunk és SPL-t helyeztünk be a dorsalis conjunctiva fornixba. A műtéti idő 70 perc volt.

Posztoperatív kezelés: SPL-en adtunk 2% atropint, saját szérumot, klóramfenikolt naponta 6x, majd 1 hét múlva naponta 4x. Flunixin inj-t 1,1 mg/kg IV 3 napig, majd fenilbutazon pasztát szájon át adagoltunk 1g/nap 4 napig, és amoxicillin-klavulánsav inj-t adtunk IM 5 napig.

A műtét utáni 11. napon ismételt szemvizsgálatkor a graft alsó széle lágyult, hypopyon és miosis volt látható. Szabálytalan granula iridica volt látható és anterior synechia volt feltételezhető. Subconj. injekcióban adtunk 1 mg atropint és 250 mg amikacint, 10 mg voriconazolt. Használtunk voriconazolt szemcsepp formájában is az SPL-en keresztül naponta 4x. 4 hét múlva eltávolítottuk az SPL-t. A klinikán töltött napok száma 34 volt.

Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 7 hónappal) a pupilla közepesen tág, a direkt PLR, hunyorgási és fenyegetési reflex megtartott volt.



műtét előtt

műtét alatt

műtét után (7 hó)

23. ábra: 5. eset

6. eset (24. ábra)

Kórelőzmény: A klinikára érkezés előtt kb. 2 hete sérült a bal szem, 2 állatorvos vizsgálta 1 hetes időközzel a lovat. Az első héten kapott Tobradex szemcseppet, majd a második héten dexpanthenolt és klóramfenikolt, de a kezelést egyre nehezebb volt kivitelezni a növekvő szemfájdalmasság miatt. A szem intenzíven könnyezett és mucopurulens váladékozás volt megfigyelhető.

Szemvizsgálati lelet (réslámpa-biomikroszkóppal, direkt oftalmoszkóppal vizsgálva):

OS: A pupilla szűk, indirekt PLR megtartott volt, a fenyegetési reflex hiányzott. Enoftalmus, súlyos blefarospasmus, kipirult kötőhártya, közepes mennyiségű mucopurulens váladékozás és könnyezés volt látható. A corneán ventro-temporalisan kb. ujjbegynyi megvastagodott, ventralisan mély árokkal rendelkező sárga plakk volt látható a cornea teljes vastagságában. A cornea diffúzan ödémás és sejtesen infiltrált volt, perilimbálsan mély erezettség volt látható. A plakk festődött fluoresceinnel. Hypopyon és miosis volt látható, tropicamid után sem tágult a pupilla, oftalmoszkópos vizsgálat nem történt. Ultrahang vizsgálat: a cornea centralisan megvastagodott, hypopyon, miosis, lencse és hátulsó szegmens ép volt.

Szaruhártya citológia vizsgálati lelet: A sejtűs kenetben változó mértékben differenciált corneális hámsejtekből álló nagyméretű kohézív sejtcsoportok domináltak, a sejtekre általában alacsony fokú mag pleiomorphismus volt jellemző, cytoplasma szegélyük rendszerint keskeny, basophil volt. Kétmagvú és osztódó alak is előfordult köztük, de malignitásra utaló jeleket nem mutattak. Egyes sejtcsoportokban szegmentált magvú neutrofil granulocyták illetve macrophag típusú sejtek voltak megfigyelhetők viszonylag kis számban, a sejtek egy része degeneratív sejtmag-elváltozásokat mutatott. Az említett sejtek között helyenként nagyszámú coccoid baktériumalak volt látható, gombafonalak nem voltak megfigyelhetők. Fibrinkötegek illetve azonosíthatatlan sejttörmelék volt látható még a kenetben. PAS-pozitív kórokozók nem voltak kimutathatók. Diagnózis: Idült (hyperplasiás) bakteriális keratitis.

Szaruhártya mikrobiológiai vizsgálati lelet: Aerob bakteriológiai vizsgálat negatív eredményű, gomba tenyésztéses vizsgálattal kisszámú penészgombatelep volt kimutatható.

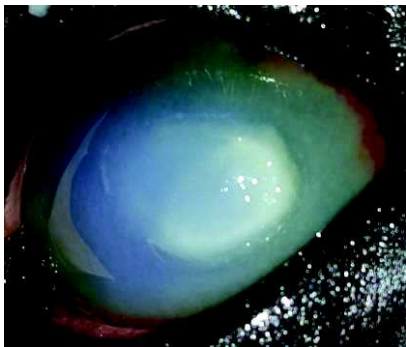
Diagnózis: Bakteriális és gombás keratitis, súlyos fokú anterior uveitis

Gyógykezelés: Általános anesztéziában a PK műtét során egy 10 mm-es fagyasztott cornea graftot varrtunk az elváltozott corneadarab helyére és nyeles kötőhártya-lebennyel fedtük a

cornea fertőzött állapota miatt. Subconj. inj-ban adtunk 1 mg atropint, 10 mg voriconazolt. SPL-t ültettünk be. A műtéti idő 70 perc volt.

Posztoperatív kezelés: SPL-en voriconazol, klóramfenikol, 2% atropin, saját szérum adása naponta 6x. 1,1 mg/kg flunixin inj-t adtunk IV 2 napig, majd 1 g/nap fenilbutazon inj-t 3 napig, majd pasztát szájon át 1 hétig. Az SPL-t kivettük 3 hét múlva, ekkor nem volt könnyezés, a szemrés tág volt. A klinikán töltött napok száma 17 volt.

Az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával (a műtét után 3 hónappal) a pupilla közepesen tág, a direkt PLR, hunyorgási és fenyegetési reflex megtartott volt.



műtét előtt



műtét alatt



műtét után (3 hó)

24. ábra: 6. eset

5.2 Megvitatás

A hat lóból 4 mén, 1 kanca, 1 herélt, négy fríz fajtájú, egy kisbéri félvér és egy magyar sportló volt. A lovak átlag életkora a műtét idején 9 év (5-16) volt. Négy esetben a jobb, két esetben a bal szem volt érintett.

A kórelőzményi adatok alapján a tünetek megjelenése 4 nap és 3 hét közötti időtartammal korábbra tehető, a tünetek pedig tipikusan a szemfájdalmasság jelei voltak (könnyezés, szemrés-zárás, fénykerülés, hunyorgás). Mindegyik ló beküldő állatorvos által referált esetként került a klinikára korábban megkezdett sikertelen szemkezelés után. Az otthoni kezelés ellenére nem javult a szemek állapota és a felületi kezelés kivitelezése is egyre nehezebb volt az erős szemfájdalom, blepharospasmus miatt. Két lónál használtak szteroid gyulladáscsökkentőt a beküldés előtt (1., 6. eset), amely gátolhatta az Aspergillussal, ill. vegyes bakteriális-gombás flórával fertőzött corneák gyógyulását. Azonban az egyik publikációban, melyben 35 keratomikózisos lovat vizsgáltak, nem találtak szignifikáns különbséget a korábban különbözőképpen kezelt (\pm szteroid, \pm antibiotikum) szemek gyógyulásának végső kimenetelében. (41)

A műtött 6 ló közül 4 fríz fajtájú volt. Genetikai vizsgálatokat nem végeztünk, de a háttérben a fríz lovak szaruhártyájának leírt disztrófiáját feltételezzük, amely különösen méneknél gyakori. (28) Lassaline-Utter cikkében 9 fríz lóban írtak le cornea disztrófiát, a 9-ből 8 mén volt (szignifikánsan gyakoribb méneknél, $p=0,012$). Az általunk operált 4 fríz lóból 3 mén és 1 kanca volt. A betegség kezdetben lehet egyoldali, majd kétoldali, változó mértékű cornea lézió, súlyosságát tekintve a felületestől a perforációig terjedően. Leggyakrabban a szaruhártya ventro-temporalis részén alakul ki és átlagos átmérője 5 mm nagyságú. Az általunk leírt esetekben is hasonló méretű léziók alakultak ki ventro-temporalisan. A cikkben szereplő fríz lovakban megjelenő cornea disztrófiára jellemző, hogy leggyakrabban kétoldali stroma károsodás alakul ki, gyakran konkrét kórok nélkül, hasonlóan a mi eseteinkhez, azonban a fríz eseteinkben mindig egyoldali elváltozás volt megfigyelhető. A cornea-disztrófia általában progresszív, de a sebészi gyógykezelés után jól gyógyul. E szaruhártya elváltozásoknak fríz lovakban genetikai hétértékű lehet, mert a cikkben leírt mind a 9 fríz lónak volt egy közös őse a pedigréjében 6 generáción belül. Valószínűsítjük, hogy ez a cornea stroma-degeneráció a pellucid marginális degeneráció (PMD) egyik fajtája lehet fríz lovakban. (28)

A klinikai felvételnél elvégzett szemvizsgálatnál legtöbbször enoftalmus, blefarspasmus, könnyezés, kipirult kötőhártya és a cornea körülírt részén stroma destrukció volt látható. A lágyuló fekélyek descemetokelét vagy perforációt eredményeztek iris-előeséssel (3, 4, 5. eset). Fertőzött keratitisek és mély lágyuló fekélyek esetében kialakul a másodlagos anterior uveitis, amely miosissal és a vér-csarnokvíz barrier összeomlásával, a csarnokvíz

zavarosságával jár. Ez minden esetben jól látható volt. Ha a szemvizsgálat során a cornea átlátszatlansága miatt, vagy a teljes miosis miatt az érintett szemben a direkt PLR nem elbírálható, akkor az ellenoldali szem indirekt pupilla fényreflex megtartottságát vizsgáljuk. Mindegyik esetenél legalább indirekt PLR vagy hunyorgási reflex kiváltható volt, tehát a szem a fényt érzékelte, ami a szemgolyó megtartása és a műtét kivitelezése mellett szólt. Ha a diagnosztikus pupillatágítás céljából adott tropicamidra sem tágul a pupilla, akkor ez szintén megerősíti a súlyos uveitis meglétét és indokolja a műtét mielőbbi kivitelezését. Cornea perforáció és iris prolapsus esetén nem használunk a műtét előtt mydriatikumot, mert a táguló pupillával iris darabok szakadhatnak le és hyphaema alakulhat ki, ami nehezíti a műtét során az elülső szemcsarnokban lévő struktúrák vizualizációját és a cornea illetve a szemgolyó gyógyulását. (15)

Ultrahang vizsgálattal képet kaphatunk a hátsó szegmensről. Ez különösen akkor fontos, ha a törőközegek átlátszatlanok és a miosis miatt az oftalmoszkópos vizsgálat sem kivitelezhető. Ultrahang vizsgálatot a 2 utolsó esetben végeztünk (5-6. eset).

Az elváltozott szaruhártya területéről vett mikrobiológiai és citológiai minta eredménye igazolja a kórokozó ágensek jelenlétét a corneában és célzottá teszi a kezelést. Két esetben (4, 5. eset) nem történt mintavétel a műtét előtt, mert a cornea perforálódott, a többinél mind a citológiai, mind a tenyésztési lelet pozitív volt és izolálható vagy kitenyészhető volt baktérium vagy gomba. A szakirodalomnak megfelelően általában coccoid baktérium alakok vagy penészgombák okozzák a fekélyek gyors lágyulását, a cornea elhalását és a kiterjedt keratomykosisokat. (3, 23, 24, 35, 41) A citológiai vizsgálat gyors eredményt ad, egyszerű és könnyen kivitelezhető. (40) A citológiai mintában leginkább nagyszámú, degenerált sejtmaggal rendelkező granulocytát, fibrint, szövettörmelékét tudtunk kimutatni és minden esetben extra- vagy intracellulárisan fagocitált kórokozókat sikerült izolálnunk.

A klinikai diagnózist a szemvizsgálati lelet, a mikrobiológiai és citológiai lelet alapján határoztuk meg, amely fertőzött keratitist és másodlagos uveitist jelentett. Négy esetben a lézió ventro-temporalisan, két esetben centrálisan helyeződött. A léziók átlagos átmérője 8,3 mm volt, a legkisebb 3 mm, a legnagyobb 10 mm. Négy esetben diagnosztizáltunk lágyuló fekélyt, ezekből egy esetben descemetokelét és 2 esetben perforációt; további 2 esetben keratomykosist, amikor a cornea nagy része fertőzött volt penészgombákkal. A citológiai és mikrobiológiai minták alapján a 4 vizsgált esetből 2 esetben penészgomba, egy esetben Staphylococcus fertőzés és egy esetben kevert gombás-bakteriális fertőzés volt igazolható.

A műtéti gyógykezeléseknek a szemgolyó megmentése, a fényérzékelés megtartása és a szem gyulladásmentes állapotának mielőbbi visszaállítása volt a célja. Két esetben (1., 4. eset) a klinikai felvétel után megkezdük az intenzív kóroki kezelést, de néhány nap után a műtéti megoldást választottuk, mert a szem állapota tovább romlott. Mindkét ló fríz fajtájú és mén volt. Ilyen esetekben a saját tapasztalatok és a szakirodalom utalásai alapján ajánlott a

PK műtét mielőbbi elvégzése, mert a konzervatív kezelés sikertelensége valószínűleg perforációhoz vagy a gyulladás súlyosbodása miatt további szemkárosodáshoz vezet. (28) Ha a klinikára érkezéskor az alábbiak kombinációja szerepel a vizsgálati leletben, akkor mindenképpen javasolni kell a mielőbbi műtéti gyógykezelést: szűk pupilla, amely diagnosztikus pupillatágítóra nem reagál; citológiai vizsgálattal igazolható gombás és / vagy bakteriális keratitis; erős szemfájdalom és súlyos fokú anterior uveitis; mély árok a lézió szélén; descemetokele; fríz fajtájú mén fekélyes keratitise.

A PK műtétek során 5 esetben fagyasztott, míg 1 esetben (2. eset) friss cornea graftot használtunk. A fagyasztva tárolt cornea a klinikai gyakorlat számára azonnal hozzáférhető és így felhasználása gyakorlatiasabb, mint a friss grafté, míg beépülésük ugyanolyan eredménnyel jár. (16, 25) Általában 1 mm-el nagyobb graft került beültetésre, mint a lézió mérete, így az átlagos graftátmérő 9 mm (7-11 mm) volt. A beültetett graftok mindegyike fibrovascularizáción ment keresztül és beépült a recipiens szaruhártyába. A centralisan helyeződő cornea hegek közepes pupilla állásnál nagyobb területet takarnak ki a szembe érkező fény útjából, ezért rosszabb látóképességet eredményeznek. Míg a periférián, főleg a dorsalis vagy ventralis cornea részen lévő kisebb graftok kevésbé befolyásolják a látást. Négy esetben (1., 3., 4., 6. eset) alkalmaztunk nyeles kötőhártya fedést a bevarrt graft felett, amely használata főleg fertőzött cornea esetében ajánlott és ezekben az esetekben mindegyik szaruhártyát fertőzöttnek tekintettük. A friss graft használatakor nem tettünk kötőhártya fedést (2. eset), ekkor a cornea nagy heggel gyógyult és a 6 hónapos posztoperatív képen megfigyelhető, hogy a ventralis bulbaris kötőhártya rákúszott a ventralis corneára és pigmentálódott, úgy viselkedett, mintha kötőhártya lebenyt alkalmaztunk volna. Nem használtunk nyeles kötőhártya lebenyt az 5. esetről sem, ekkor viszont posztoperatíván a graft ventralis részén lágyulás és varratelégtelesség jelentkezett, majd következményes hypopyon, amit sikerült eliminálni subconj. injekcióban adott atropinnal, amikacinnal, voriconazollal. (19) A 6 mm-nél nagyobb graftoknál és lágyuló fekélyek miatti perforációnál klinikai tapasztalatok alapján szükségesnek tartják a kötőhártyával vagy amnion-membránnal történő fedést. (25) Azonban e cikkünkben a szerzők nem találtak szignifikáns különbséget azon lovak műtét utáni látóképessége között, akik kaptak, illetve nem kaptak kötőhártya- vagy amnion-fedést a PK műtét során. A kötőhártya- vagy amnion-fedés csökkentheti a varratelégtelességet és a csarnokvíz szivárgását, mert fizikai megerősítést képvisel és csökkenti a sebszél és a varratokat érő proteináz aktivitást. (25) A műtéti idő lerövidítése kritikus tényező. Minél rövidebb ideig legyen a recipiens cornea és a szem belseje nyitva és graft nélkül, mert az eltelt idő növeli az intraoperatív fertőzés, illetve a posztoperatív szövődmények lehetőségét. A műtét utolsó lépése minden esetben egy subconjunctiválisan adott injekció volt, ami atropint és / vagy vorikonazolt tartalmazott. Minden esetben a posztoperatív kezeléshez SPL-t ültettünk a felső szemhéj alá, amit

legkorábban a 3. héten, de általában a 4. héten távolítottunk el, miután a felületi kezelések gyakoriságát fokozatosan csökkentettük. Az első 4 esetben (1-4. eset) végeztünk laterális canthotomiát, és az első 3 esetben (1., 2., 3. eset) ideiglenes részleges tarsorrhaphiát is. Ezek a lépések akkor szükségesek, ha a sebész úgy ítéli meg, hogy a műtéti terület jobb hozzáférhetősége illetve a cornea gyógyulása ezt igényli.

A sebészi technikára vonatkozóan a műteteink során az alábbi következtetéseket tudtuk levonni:

- Fontos, hogy a szem spekulum szárai a szemhéjak széthúzása során ne nyomják a szemgolyót, hanem az orbita csontos peremére feküdjenek fel a cornea műtét során. Ellenkező esetben a szemgolyó nem elég mobilis és az összenyomatással nehezebb az elülső szegmentum terét fenntartani.
- Az előkészítés során minden esetben elégséges volt a cornea és kötőhártya felületi érzéstelenítése oxybuprocainnal, retrobulbaris érzéstelenítésre nem volt szükség.
- Az operált szemem először lemértük a kimetszendő cornea darab átmérőjét, majd a donor graftot készítettük elő külön asztalon, ami után kritikus, hogy új steril kesztyűt használjon az operatőr és steril kéziműszereket, amik nem érintkeztek a donor szemgolyóval, mielőtt megkezdí a transzplantátum beillesztését a recipiens corneába. A kesztyű és műszerek cseréjével csökkenthető a fertőzésveszély, ezzel az a cél, hogy a beültetett szaruhártya darabok ne legyenek kontaminálva.
- A donorként szolgáló felengedett teljes szemgolyó szaruhártyáját alaposan le kell öblíteni BSS-oldattal vagy Ringer-laktát oldattal a graft kimetszése előtt.
- A donor graft legalább 0,5-1 mm-rel nagyobb legyen a recipiens ágynál, hogy a sebszélek jól illeszkedjenek.
- A recipiens lóban az elülső szemcsarnok megnyitása utáni első teendő, hogy viszkoelasztikus anyaggal stabilizáljuk a cornea mögötti teret. A hyaluronsavat nem távolítottuk el egyik esetben sem, mert az felszívódik a csarnokból, de átmenetileg emelheti a műtét utáni szemnyomást. Kimosása például anterior vitrectommal lenne lehetséges, túáspirációval nem lehet eltávolítani az elülső szemcsarnokból.
- A donor graftot a recipiens corneába való beillesztése után először 4 egyszerű csomós varrattal rögzítjük.
- Először a donor korongba, majd a recipiens corneába öltünk mélyen a DM-ig. A donorból kisebb darabot foglalunk az öltésbe, mint a környéki corneából.
- A csomózásnál egyszerű sebészcsomót használunk, a csomó a sebszél külső széléhez van közelebb, amit a recipiens szövetbe bújtatunk.
- A 4 pozicionáló varrat egy rombusz alakot ad a donor graft belsejében, ezeket emberben a végső futóvarrat elkészültével eltávolítják.

- Mivel lóban nincs Bowman-hártya és legtöbbször már fertőzött corneába történik a graft bevarrása, ezért a szövetdarab rögzítéséhez egyszerű csomós varratokat használtunk. Emberekben, ha a Bowman-hártya sérült vagy károsodott, akkor a futó varrat helyett inkább csomós varratokat használnak. A Bowman-hártya károsodásakor létrejöhet az ereződés és immunrejekció emberben.

Az átlagos műtéti idő 72 perc volt, ami a spekulum behelyezésétől az utolsó subconj. inj. beadásáig eltelt időt jelenti. A legrövidebb PK 50 percig, a leghosszabb 100 percig tartott. A nyeles kötőhártya-lebény készítése a műtéti időt kb. 10 perccel megnöveli, azonban ekkor a graft csomós varratokkal való rögzítése kiváltható lenne 4 csomós és tova futó varrattal.

Az SPL-en végzett felületi kezelések minden esetben tartalmaztak mydriatikumot, antibiotikumot, saját szérumot, estenként antimikotikumot, EDTA oldatot. A posztoperatív szisztémás kezelés mindig tartalmazott NSAID-t, a műtét utáni 3-5 napig IV injekcióban, később szájon át adható pasztában. Rendkívül fontos a jó eredmény érdekében a szem és a kezelésekhöz szükséges SPL védelme a műtét után egy szemvédő sapkával, majd fejhálóval, hogy a ló ne tudja a szemhéjakat és a szemet dörzsölni a kezeléseket és a gyógyulás során. A műtét utáni időszakban minden lovon használtunk szemvédő sapkát illetve fejhálót. A klinikán töltött napok száma átlagosan 28,8 nap volt (17-43 nap), ami megfelel a 4 hetes SPL kezelésnek, amely végén a drén kivételre került még a klinikán. Legtöbbször a tulajdonos nem tudja otthon megoldani a felületi kezelést az SPL segítségével sem, mert nagy feledat a gyakori kezelés és a szem védelmének menedzsmentje is. A drén eltávolítását azonban az otthoni ellátó állatorvos is elvégezheti. A nyeles kötőhártya lebényt érdemes 2-3 hónap elteltével a nyélnél átmetszeni, hogy a heg minél halványabb és kisebb legyen. A korai utánkövetés végén, általában 4 hét elteltével a fényérzékelés megmaradt, minden esetben kiváltható volt az indirekt PLR és a hunyorgási reflex. Mindegyik graft és nyeles kötőhártya lebény beépült a corneába, varratszedést nem végeztünk egy esetben sem.

PK műtéttel – akár kötőhártya lebennyel kombinálva– sikeres fényérzékelés, esetenként jó látóképesség maradhat a szaruhártya teljes perforációja után is. Mindegyik operált ló visszatérhetett az eredeti munkába, szemük nem volt fájdalmas, nem könnyezett, a szemrés nyitott volt az utolsó kontroll vizsgálat alkalmával. A beültetett graft minden esetben fibrózissal épült be a szaruhártyába.

6. Következtetések

Az általunk 8 egészséges és 9 beteg lószemen elvégzett PK műtétek alapján a graft elhomályosodása és immunrejekciója tipikusan az 5–7. napon kezdődött, és mindig bekövetkezett, nem tudtuk kivédeni. Egészséges szaruhártyán végzett PK esetében is az immunrejekció eredményeképpen elhomályosodnak, pigmentálódnak a graftok. (29) Lóban az erős graft immunrejekció magyarázatát még nem ismerjük, az azonban bizonyos, hogy jelentős gyulladásos és immunológiai reakciók zajlanak a szaruhártya folytonosságának megszakadásakor, hiszen a műtét után az IgA- és IgM-szintek megemelkednek. Ezért nagyon valószínűtlen, hogy olyan átlátszó graftok maradjanak vissza lovak szemében, mint amilyenek az emberi szaruhártya-átültetések után várhatók. Egy kisméretű szaruhártyaheg azonban sikeres eredménynek számít lovakban. Emberekben viszont a gyulladt szaruhártyába ültetett graftok elhomályosodása és hegesedése esetén ismételt műtétre lehet szükség, amennyiben annak indikációja nem a lovakban ismertetett tektonikus indikáció, és az elhelyezkedésük centrális. Lovakkal kapcsolatosan inkább a cornea-graft vagy „corneal patch” és nem a szaruhártya-átültetés kifejezés lehet alkalmas a műtét megnevezésére, mert ezen esetekben egy relatíve kicsi, általában fagyasztott szövetdarabot, immunológiai egyeztetés nélkül használunk a hiányzó vagy megbetegedett cornea helyére tektonikus célból. Leggyakorlatiasabb a mélyfagyasztott, elhalt endothelsejteket tartalmazó graftok használata, amelyek $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on akár 6 hónapig is eltarthatók, ill. felhasználhatók. Saját tapasztalataink alapján a nem teljesen felengedett, fagyasztott donor graft könnyebben varrható. A legideálisabb a friss csikóhullából származó, még ép endothel sejtekkel rendelkező graft, de ez is teljes mértékben elhomályosodik a posztoperatív szakban. Azonban a friss graftok hozzáférése estleges, a szövettároló folyadékban való konzerválás igen drága és néhány hétre korlátozódik a felhasználhatóság ideje. Valós kozmetikai különbség nincs a különféleképpen tárolt graftok beültetése után. Automata mikrokeratom használata, új fertőzésellenes és kilökődést gátló gyógyszerek javíthatják az eredményeket lovakban. Mindezen technikák tökéletesítése talán egyszer jobban átlátszó corneát fog eredményezni lovakban is keratoplasztika után. Kutyaiban végzett kísérleti PK-műtétek alátámasztják a tapasztalatainkat, miszerint a műtét sikerességét leginkább a cornea varrási technikája, a sebészi jártasság és a beültetett graft endothelsejtjeinek minősége határozza meg. (32, 33) A lovaknál alkalmazott különféle keratoplasztikák elterjedése és további fejlesztése segít csökkenteni a súlyos szaruhártyamegbetegedések következményeit, és kedvezőbb kórjóslatot ígér.

7. Új tudományos eredmények

1. Először írtuk le szövettároló folyadékban tartósított cornea graftok felhasználását lovak PK műtéteinél.
2. Az egészséges, átlátszó, érmentes, ép endothellel rendelkező corneába ültetett akár friss vagy konzervált graft is átlátszatlan maradt lóban.
3. A friss, tartósított vagy fagyasztott donor graftok hasonló lépésekben, azonos eredménnyel alkalmazhatók ló PK műtéteihez.
4. A másodlagos anterior uveitis az ép szaruhártya PK műtétek után is kialakul.
5. Először határoztuk meg a könny immunglobulin szintjeit lóban. A könny IgG-szintje alacsony alapszintet mutat, míg a PK után a 3-10. napok közötti időszakban az IgA- és IgM-szint emelkedik az operált szemekben.

8. Irodalomjegyzék

1. Andrew SE: Corneal stromal abscess in a horse. *Vet Ophthalmol* 1999. 2. 207-211.
2. Andrew SE, Brooks DE: The success and complication rate of penetrating keratoplasty in the horse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999. 40. 253.
3. Andrew SE, Brooks D, Smith P et al: Equine ulcerative keratomycosis: visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987-1996). *Equine Vet J* 1998. 30. 109-116.
4. Andrew SE, Brooks DE et al: Posterior lamellar keratoplasty for treatment of deep stromal abscesses in nine horses. *Vet Ophthalmol* 2000. 3. 99-103.
5. Andrew SE, Willis AM: Diseases of the cornea and sclera. In: Gilger BC (Ed.): *Equine Ophthalmology*. Elsevier Saunders. St. Louis, MO, 2010. 157-251.
6. Berta A, Lampé Zs: Immunglobulin levels in the tears of patients with corneal grafts and transplant rejection. *Adv Exp Med Biol* 1998. 438. 603-609.
7. Brooks DE: Equine ophthalmology. In: *Veterinary ophthalmology* 3rd ed. (ed. Gelatt, K. N.). Williams and Wilkins. Philadelphia. 1999. 1053-1116.
8. Brooks DE: Inflammatory stromal keratopathies: medical management of stromal keratomalacia, stromal abscesses, eosinophilic keratitis, and band keratopathy in the horse. *Vet Clin North Am-Equine* 2004. 20. 345-360.
9. Brooks DE: Penetrating keratoplasty, deep lamellar endothelial keratoplasty, and posterior lamellar keratoplasty in the horse. *Clin Tech Equine Pract* 2005. 4. 37-49.
10. Brooks DE: Equine stromal and endothelial keratopathies: Medical management of stromal abscesses, eosinophilic keratitis, calcific band keratopathy, striate band opacities, and endotheliitis in the horse. *Clin Tech Equine Pract* 2005. 4. 21-28.
11. Brooks DE: Complications of ophthalmic surgery in the horse. *Vet Clin North Am-Equine* 2008. 24. 697-734.

12. Brooks DE: Targeted lamellar keratoplasty in the horse: A paradigm shift in equine corneal transplantation. *Equine Vet J* 2010. 37. 24-30.
13. Brooks DE, Matthews AG: Equine ophthalmology. In: Gelatt KN (Ed.): *Veterinary Ophthalmology*. Blackwell Publishing, Ames, IA, 2007. 1165-1274.
14. Brooks DE, Plummer CE, Kallberg ME et al: Corneal transplantation for inflammatory keratopathies in the horse: Visual outcome in 206 cases (1993-2007). *Vet Ophthalmol* 2008. 11. 123-133.
15. Chmielewski N, Brooks D, Smith P, et al: Visual outcome and ocular survival following iris prolapse in the horse: a review of 32 cases. *Equine Vet J* 1997. 29. 31-39.
16. Clode A: Diseases and surgery of the cornea. In: Gilger, B. C. (Ed.): *Equine Ophthalmology*. 2nd ed. Elsevier Saunders. Missouri, 2011. 181-266.
17. Denis HM: Equine corneal surgery and transplantation. *Vet Clin North Am-Equine* 2004. 20. 361-380.
18. Gaarder JE, Rebhun WC, Ball MA et al: Clinical appearances, healing patterns, risk factors, and outcomes of horses with fungal keratitis: 53 cases (1978-1996). *J Am Vet Med Assoc* 1998. 213. 105-112.
19. Gilmour MA: Subconjunctival voriconazole for the treatment of mycotic keratitis in a horse. *Equine Vet Edu* 2012. 24. 489-492.
20. Hamilton HL, McLaughlin SA, Whitley EM et al: Histological findings in corneal stromal abscesses of 11 horses: Correlation with cultures and cytology. *Equine Vet J* 1994. 26. 8-453.
21. Hedge S, Niederkorn JY: The role of cytotoxic T lymphocytes in corneal allograft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000. 41. 3341-3347.
22. Hendrix DVH, Brooks DE, Smith PJ et al: Corneal stromal abscesses in the horse: a review of 24 cases. *Equine Vet J* 1995. 27. 440-447.

23. Hendrix D, Chmielewski N, Smith P et al: Keratomycosis in four horses caused by *Cylindrocarpum destructans*. *Vet Comp Ophthalmol* 1996. 6. 252-257.
24. Henriksen ML, Andersen PH, Plummer CE et al: Equine corneal stromal abscesses: An evolution in the understanding of pathogenesis and treatment during the past 30 years. *Equine Vet Edu* 2013. 25. 315-323.
25. Henriksen ML, Plummer CE, Mangan B et al: Visual outcome after corneal transplantation for corneal perforation and iris prolapse in 37 horses: 1998-2010. *Equine Vet J* 2012. 44. Suppl. 43. 115-119.
26. Kawakita T, Kawashima M et al: Achievements and future problems with component surgery of the cornea. *Cornea*, 2007. 26. 59-64.
27. Kerényi Á, Nagy Gy, Veres A et al: C1r-C1s-C1inhibitor (C1rs-C1inh) complex measurements in tears of patients before and after penetrating keratoplasty. *Current Eye Research* 2002. 24. 99-104.
28. Lassaline-Utter M, Gemensky-Metzler AJ, Scherrer NN et al: Corneal dystrophy in Friesian horses may represent a variant of pellucid marginal degeneration. *Vet Ophthalmol* 2014. 17. Suppl. 1. 186-194.
29. Makra Z, Tuboly T, Bodó G: Penetrating keratoplasty and graft rejection in eight horses. *Acta Vet Hung* 2013. 61. 160-174.
30. McMullen R, Baker R et al: Ophthalmic surgery in horses under standing sedation. *Conference Proceedings, ESVO Annual Scientific Meeting Krakow*. 2012. 48.
31. Niederkorn JY: The immune privilege of corneal allografts. *Transplantation*, 1999. 67. 1503-1508.
32. Pena TG, Leiva M. et al: Endothelial findings after full-thickness keratoplasty in dogs. Experimental study. *Conference Proceedings. ECVO Annual Scientific Meeting. Barcelona*, 2013. 66.

33. Pena TG, Leiva M et al: Histopathologic findings after full-thickness keratoplasty in dogs. Experimental study. Conference Proceedings. ECVO Annual Scientific Meeting. Barcelona, 2013. 67.
34. Plummer CE, Kallberg ME et al: Deep lamellar endothelial keratoplasty in 10 horses. Vet. Ophthalmol 2008. 11. 35-43.
35. Scherman AB, Clode AB, Gilger BC: Impact of fungal species cultured on outcome in horses with fungal keratitis. Vet Ophthalmol 2016. 3. 1-7.
36. Shimmura S: Component surgery of the cornea. Cornea, 2004. 23. 31-35.
37. Streilein JW: What do T lymphocytes „see” when penetrating keratoplasty fails? Cornea. 2000. 19. 146-154.
38. Strubbe DT, Brooks DE, Schultz GS et al: Evaluation of tear film proteinases in horses with ulcerative keratitis. Vet. Ophthalmol 2000. 3. 111-119.
39. Tan DT, Mehta JS: Future directions in lamellar corneal transplantation. Cornea 2007. 26. 21-28.
40. Tóth J, Hollerieder J, Sótonyi P: Keratitis purulenta. Kapitel No 8. Kornea. In: Tóth J, Hollerieder J, Sótonyi P: Augenheilkunde beim Pferd. Schattauer. Stuttgart, 2010. 143.
41. Voelter-Ratson K, Pot SA, Florin M, Spiess BM: Equine keratomycosis in Switzerland: A retrospective evaluation of 35 horses (January 2000- August 2011). Equine Vet J 2013. 45. 608-612.
42. Watte C: Revisiting stromal keratitis. Continuing education immunology and inflammation. Conference proceedings. ECVO Annual Scientific Meeting. Barcelona, 2013. 35-39.
43. Whittaker CJG, Smith PJ et al: Therapeutic penetrating keratoplasty for deep corneal stromal abscesses in eight horses. Vet Comp Ophthalmol 1997. 7. 19-28.
44. Willcox MDP, Morris CA, Thakur A et al: Complement and complement regulatory proteins in human tears. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997. 38, 1-8.

45. Woerd A, Gilger BC, Wilkie DA: Penetrating keratoplasty for treatment of recurrent squamous cell carcinoma of the cornea in a horse. J Am Vet Med Ass 1996. 208. 1692-1694.

9. Publikációk

Az értekezéshez kapcsolódó publikációk

Z. Makra, T. Tuboly, G. Bodó: Penetrating keratoplasty and graft rejection in eight horses. Acta Veterinaria Hungarica, 2013. 61; 160-174.

Z. Makra, I. Biksi, G. Bodó: Penetrating keratoplasty for treatment of corneal abscesses in horses-case report. Acta Veterinaria Brno, 2013. 82; 337-343.

Makra Z., Bodó G.: Különböző keratoplasztikák alkalmazási lehetőségei lovak szaruhártyájának műtéti gyógykezelésére. Irodalmi áttekintés. Magyar Állatorvosok Lapja, 2013. 135; 579-586.

Konferenciaközlemények

Makra Z.: A ló szaruhártya konzerválása keratoplasztika céljából. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2005.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. XIII. Magyar Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2005.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2006.

Makra Z.: A keratoplasztika alkalmazása lovon. Lótenyésztési Tudományos Napok, Debrecen, 2006.

Makra Z.: Immunglobulinok vizsgálata ló könnyben szaruhártya átültetés és graft immunrejekció után. SZIE ÁOTK Akadémiai Beszámoló, 2007.

Makra Z.: Lovak gyakoribb szaruhártya betegségeinek diagnosztizálása és gyógykezelése. IV. Szentesi Nemzetközi Állatorvosi Konferencia, Szentés, 2014.

Makra Z, Biksi I: A szaruhártya citológiai vizsgálatának diagnosztikai jelentősége. XXII. Lógyógyászati Kongresszus, Visegrád, 2014. november 28-29.

Az értekezéshez nem kapcsolódó egyéb publikációk

T. D. Ambriskó, J. P. Schramel, A. Adler, O. Kutasi, **Z. Makra**, P. Moens: Assessment of distribution of ventilation by electrical impedance tomography in standing horses. *Physiological Measurement*, 2015. 37; 175-186.

Z. Makra, Sz. Molnár: Ocular cases evaluated by the Equine Clinic of the Veterinary Faculty, Szent István University over five years. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Helsinki, Finland May 28-31 2015. *Veterinary Ophthalmology*, 2015. 18; 5; 4-17.

Z. Makra, Sz. Molnár, Cs. Jakab: Bilateral corneal dermoid and eyelid malformation in a colt: a case report. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Helsinki, Finland May 28-31 2015. *Veterinary Ophthalmology*, 2015. 18; 5; 4-17.

Wirth K., Izing S., Tóth B., **Makra Z.**: Lovak húgykövességének diagnosztikája, klinikuma és sebészeti gyógykezelésének lehetőségei. 2. Esetismertetések Magyar Állatorvosok Lapja 2015. 137; 1; 3-13.

Makra Z., Wirth K., Tóth B.: Lovak húgykövességének diagnosztikája, klinikuma és sebészeti gyógykezelésének lehetőségei. 1. Irodalmi összefoglaló Magyar Állatorvosok Lapja 2014. 09. 514-526.

M. P. Dunay, T. Németh, **Z. Makra**, S. Izing, G. Bodó: Laparoscopic cryptorchidectomy and ovariectomy in standing horses using the Enseal® tissue-sealing device. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2012. 60; 41-53.

Szenci O., Biksi I., Bohák Zs., Horváth A., **Makra Z.**, Hevesi Á.: A ló- és haszonállatgyógyászat jelene és lehetőségei. *Magyar Tudomány*, 2012. 173; 25-33.

Makra Z., Bodó G., Szenci O.: Lovak szemének ultrahangvizsgálata. Irodalmi áttekintés és saját tapasztalatok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2007. 129; 06-15.

Makra Z., Szentgáli Zs.: Lovak fekélyes szaruhártya-gyulladásainak konzervatív gyógykezelése. Irodalmi áttekintés és esetismertetés. Magyar Állatorvosok Lapja, 2004. 126; 195-204.

Lukács JZ, Felkai F, **Makra Z**, Szenci O: Laparoszóppal végzett ovariectomia macskán. Magyar Állatorvosok Lapja 2004. 126; 5; 314-315.

Konferenciaközlemények

Z. Makra: Ocular pain model and pain scoring in horses. WEVA 13. Konferencia, Budapest, 2013. október 03-05. Konferenciaközlemény, CD

Z. Makra, K. Veres-Nyéki: The real tricks and most useful TIVA tips in general anesthesia under field conditions. WEVA 12. Congress, Hyderabad, India, 2011. november 02-05. Konferenciaközlemény, CD

Z. Makra: Retrobulbar lymphoma. Case presentation. Dorothy Havemeyer Foundation Equine Ophthalmology Symposium (IEOC). Florida, Amerikai Egyesült Államok, 2011. április 01-02. pp. 23-24. Konferenciaközlemény

Poszterek

Z. Makra, I. Biksi, A. Goodhead: Clinical features and treatment possibilities of equine ocular Habronemiasis in Hungary and South-Africa. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the ECVO, Budapest, Hungary May 19-22 2016.

Makra Z.: Lovak fekélyes szaruhártya-gyulladásainak konzervatív gyógykezelése. XI. Magyar Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2003.

10. Köszönetnyilvánítás

Minden sikeres nő mögött is van egy támogató férfi és család, nem csak fordítva! Egyedül nem tudtam volna ilyen intenzíven tanulva és dolgozva összetartani a családot, felnevelni a gyerekeket, egyensúlyban tartani a feladatokat. A párom folyamatos tevőleges támogatása nélkül talán nem is vállaltam volna ezt a feladatot. Köszönet Imrének a szeretetért és türelemért.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Bodó Gábornak a biztatásért és a szakmai igényességre való nevelésért, továbbá a közreműködésért, ami nélkül ezek az eredmények soha nem valósulhattak volna meg.

Hálás vagyok minden páciensemnek, a lovaknak, akik kezelésük során megtanítottak a szemészetből nagyon sok mindenre, amiket sem könyvekből, sem szócikkekben nem lehet megtanulni, de bárcsak gyorsabban tudtam volna tanulni tőlük!

Köszönet illeti Dr. Biksi Imrét a mikrobiológiai és citológiai vizsgálatok precíz elvégzéséért, Dr. Tuboly Tamást az ELISA vizsgálatokért, Abonyi-Tóth Zsoltot a statisztikai analíziséért, Gyulai Katalin grafikus az ábrák igényes és gyors elkészítéséért és a Lógyógyászati Klinika minden munkatársát a segítségükért.