

Univerzita Karlova
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Autoreferát disertační práce

**Simulace vlivu intrastromální implantace
rohovkové lentikuly**

MUDr. Martina Poláčková



Praha
2023

Doktorské studijní programy v biomedicíně
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor experimentální chirurgie, předseda oborové rady:
prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.

Školící pracoviště: Oční klinika FNKV a 3. LF UK

Autor: MUDr. Martina Poláčková

Školitel: doc. MUDr. Pavel Studený, PhD, MHA

Školitel konsultant (byl – li):

Oponenti: doc. MUDr. Gabriela Mahelková, PhD.
prof. MUDr. Pavel Rozsíval, CSc., FEBO

Autoreferát byl rozeslán dne....

Obhajoba se koná dne... v... hod. kde....

S disertací je možno se seznámit na děkanátě
3.lékařské fakulty Univerzity Karlovy

Seznam použitých zkratk

DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty) –
zadní lamelární keratoplastika
FS laser – femtosekundový laser
KGy – kilogram
ReLEx SMILE (small incision lenticule extraction) – refrakční
extrakce lentikuly malým řezem
SEM – skenovací elektronový mikroskop

Obsah

Souhrn.....	4
Summary.....	5
Úvod.....	6-7
Hypotézy a cíle práce.....	7-8
Materiál a metodika.....	8-9
Výsledky.....	10-15
Diskuze.....	16-17
Závěry.....	18
Seznam vybrané použité literatury.....	19-20
Seznam publikací doktoranda in extenso.....	23

Souhrn:

Rohovková stromální lentikula je část stromatu rohovky, která mimo jiné vzniká jako odpadní produkt refrakčního zákroku typu ReLEx SMILE. Její implantací lze teoreticky léčit závažná onemocnění rohovky, jako je například perforací hrozící protenčení či nehojící se vředy. Byly publikovány i práce, kdy byla lentikula implantována za účelem léčby hypermetropie či presbyopie. Nicméně dosud nebyly stanoveny konkrétní parametry, na podkladě kterých bychom mohli vybrat konkrétní lentikulu nejvhodnější pro daného pacienta k zajištění prediktability refrakčního výsledku.

Jedním z důležitých cílů naší práce je zjistit vliv charakteristik implantované rohovkové stromální lentikuly na refrakční parametry rohovky příjemce, zaměřili jsme se především na vliv její optické mohutnosti související s její tloušťkou. Dále jsme zkoumali rigiditu a transparentitu této tkáně, které lze ovlivnit metodami zpracování a preservace.

Zabývali jsme se detailně jednotlivými metodami zpracování a uchování rohovkové stromální tkáně před její implantací s cílem zajistit bezpečné a efektivní využití této tkáně.

Správné klinické využití lentikuly totiž může předejít nutnosti transplantace rohovky v plné tloušťce, což pacientům eliminuje rizika spojená s tímto náročným zákrokem, ale také snižuje počet nutných dárcovských rohovek, kterých je celosvětově nedostatek.

Summary:

Corneal lenticule is a part of the corneal stroma, which arises as a by-product of the laser refractive procedure ReLEx SMILE in order to treat a refractive disorder.

This tissue can be theoretically used to treat patients with corneal defect, thinning or ectasia, which has been previously described in published studies. In our department we have been successfully using lenticule implantation in patients with severe corneal defects or ulcers.

Successful lenticule implantation can prevent the need to perform the penetrating keratoplasty with all its risks and possible complications which would also reduce the problems with the lack of donor corneas from cadaverous donors.

In future, we would like to benefit from the biconcave shape of the lenticule in patients with keratoconus and other indications. However in order to reach the best possible postoperative results, we need more knowledge about the influence of the lenticule implantation on refractive parameters. We studied the influence of lenticule thickness as well as its rigidity and transparency which can be also influenced by its preservation.

Besides the impact of the characteristics of the lenticule on refractive parameters, we also focused on the possible methods of its preparation and preservation to ensure safe and effective utilization of this tissue.

Úvod:

Rohovková lentikula je část stromatu rohovky, která vzniká jako vedlejší produkt laserového refrakčního zákroku typu ReLEx SMILE s cílem odstranění nutnosti nošení brýlové korekce.

Jedná se o transparentní tkáň, jejíž majoritní komponentou jsou kolagenní vlákna jen s minimální přítomností rohovkových buněk, což samo o sobě eliminuje imunogenicitu a následné riziko rejekce.

Tuto tkáň je možné teoreticky využít u pacientů s defektem rohovky nebo tam, kde plánujeme změnit zakřivení rohovky (například u pacientů s keratokonem nebo dalekozrakostí), což bylo již dokumentováno v pracích zahraničních autorů i kolegů z našeho týmu. Bylo zdokumentováno, že optická mohutnost implantované lentikuly není shodná s hodnotou korigované refrakční vady, avšak přesné parametry k tomuto výpočtu nebyly dosud popsány.

Na našem pracovišti již transplantace lentikul využíváme u pacientů s rohovkovými defekty. V případě, že by operace měla předpokládaný efekt, je možné u těchto pacientů předejít klasické transplantaci rohovky (v plné tloušťce), která je spojena s celou řadou možných komplikací.

Do budoucna se teoreticky nabízí využívat bikonkávního tvaru lentikuly v léčbě pacientů s keratokonem a dalších indikacích. K dosažení co možná nejlepšího refrakčního efektu u těchto pacientů by bylo vhodné zjistit efekt implantované lentikuly na pooperační refrakční výsledek, a to s ohledem na tloušťku lentikuly, případně i vliv tuhosti a transparence lentikuly, který je možné ovlivnit například i metodou její preservace. Důležitým cílem naší práce je zefektivnění využití dárcovské rohovkové tkáně a zajištění možnosti využití jedné dárcovské rohovkové tkáně pro více příjemců. Vzhledem k tomu, že v těchto případech hovoříme pouze o stromální nízkobuněčné

tkáni, redukuje riziko komplikací po operaci, jako je mimo jiné rejekce transplantátu a eliminujeme tak rizika spojená s transplantací rohovky v plné tloušťce. Nově zavedené možnosti uchování by teoreticky prodloužily životnost dárcovské tkáně ze standardních 14 dnů v hypotermii na 2 roky. Z tohoto důvodu se nabízí analyzovat jednotlivé metody zpracování a uchování rohovek s cílem vytvořit efektivní a bezpečný postup umožňující dlouhodobé skladování tkáně. To vše by vedlo ke zvýšení množství využitelné dárcovské rohovkové tkáně a zkrácení čekací doby pacientů.

Hypotézy a cíle práce

Zjistit vliv implantace lentikuly na refrakční parametry příjemce, tedy pachymetrii, zakřivení přední a zadní plochy rohovky a její celkovou optickou mohutnost. Znalost těchto hodnot by mohla napomoci i k dalšímu klinickému využití lentikul, například při plánování refrakčního efektu implantace.

Sekundárním cílem bylo vytvořit podklady pro metodiku, která pomůže zefektivnit využití dárcovských rohovek. Kromě získání lentikul jako odpadního produktu refrakčního zákroku je teoreticky možné připravit podobný transplantát z nevyužitých dárcovských rohovek, či jejich částí, pomocí mikrokeratomu či femtosekundového laseru.

Následně je nutné stanovit optimální postupy uchování těchto tkání, konkrétně hypotermii, uchování v glycerolu či jejich kryopreservaci.

V souvislosti s tím nás zajímaly také některé postupy decelularizace (gama záření) a sterilizace rohovkového stromatu, které by teoreticky mohly vést k možnosti dlouhodobého uchování při pokojové teplotě bez nutnosti dalšího skladovacího vybavení.

Hypotéza 1: Lentikuly vyšší optické mohutnosti implantované v uniformní hloubce rohovkového stromatu mají signifikantně větší vliv na zakřivení a optickou mohutnost rohovky.

Hypotéza 2: Pomocí femtosekundového laseru jsme schopni připravit několik dárcovských lentikul či lamel z jedné dárcovské rohovky.

Hypotéza 3: Tkáň ošetřená pomocí gama záření vykazuje známky decelularizace a sterilizace za současného zachování uspokojivých morfologických charakteristik pro implantaci.

Hypotéza 4:

Kryopresevace zachovává vhodné vlastnosti rohovkové stromální tkáně a tato metoda umožňuje bezpečné uchování tkáně s dlouhodobou použitelností.

Materiál a metodika

Experiment 1 - Zjištění vlivu implantované lentikuly na refrakční parametry rohovky příjemce:

Provedli jsme ex vivo studii na enukleovaných normotonických prasečích bulbech. Bulby byly rozděleny do 2 skupin – k implantaci 4D a 8D lentikuly. Použité stromální lentikuly byly získány jako vedlejší produkt laserového zákroku ReLEx SMILE u refrakčních pacientů.

Implantaci jsme provedli v uniformní hloubce 300um do rohovkové kapsy vytvořené pomocí diamantového nože a přístroje PocketMaker, f. DiopTex©. Hodnotili jsme refrakční parametry změřené pomocí přístroje Oculus Pentacam©, a to před a bezprostředně po implantaci lentikuly. Výsledky obou skupin před i po implantaci jsme statisticky porovnali pomocí Mann-Whitneyho analýzy a změny v rámci každé ze skupin pak pomocí Wilcoxonova testu.

Experiment 2 - Metody zpracování a uchování lidské rohovkové lentikuly

Provedli jsme morfologickou analýzu (histologie, skenovací elektronový mikroskop) lentikul/lamel, abychom porovnali jednotlivé metody přípravy a následného uchování rohovkové stromální tkáně. Posoudili jsme chování tkání při implantaci do rohovky příjemce a porovnali jsme odlišnosti v jejich chování v závislosti na technice přípravy, tak abychom mohli doporučit optimální postup z hlediska chirurgické využitelnosti.

Porovnávali jsme dvě metody přípravy: manuální disekce z dárcovských rohovek pomocí mikrokeratomu a pomocí FS laseru. Testovanými metodami uchování byla hypotermie při 4°C, kryopreservace při -80°C v DMSO (dimethyl sulfoxid) a uchování v glycerolu při pokojové teplotě. Část lentikul či lamel byla před uchováním ozářena gama zářením 25 kGy (KiloGray). Vzorky jsme následně porovnali oproti čerstvé rohovce uchované v Eusolu-C při teplotě 4 stupně Celsia.

Výsledky

Experiment 1

Mezi skupinami očí pro implantaci 4D a 8D nebyly statisticky významné rozdíly před implantací lentikul v žádném ze sledovaných parametrů. U obou skupin vedla intrastromální implantace lentikuly ke statisticky signifikantnímu nárůstu pachymetrie a zakřivení přední plochy rohovky. Nicméně v porovnání obou skupin nebyl zaznamenán statisticky významný vliv tloušťky implantované lamely na pooperační výsledky, které byly v obou skupinách srovnatelné. Výsledky obou skupin před a po implantaci jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

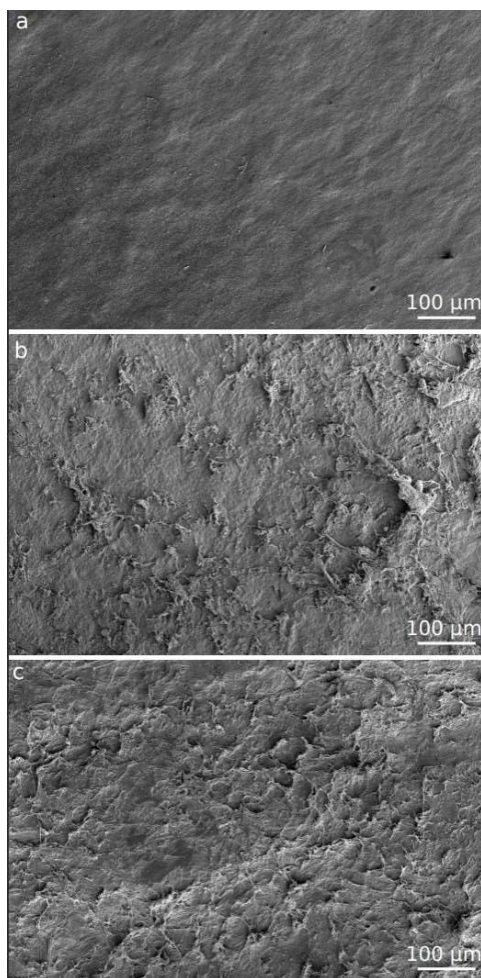
Experiment 2

Co se týká přípravy, rohovkové lamely připravené pomocí mikrokeratomu mají pravidelnější a hladký povrch oproti FS laseru. Tento nález jsme opakovaně prokázali pomocí elektronového mikroskopu. (Obr. 1). Nicméně pomocí FS laseru jsme byli schopni z 1 dárcovské rohovky vytvořit 5 i více lamel či lentikul k transplantaci, zatímco při použití mikrokeratomu připravíme maximálně 2-3 lamely. Ozáření gama zářením vedlo k výraznému poškození kolagenních vláken rohovkového stromatu a ztrátě jejich pravidelného uspořádání. U ozářených rohovek došlo ke ztrátě jejich transparence za výrazného zvýšení rigidity znesnadňující bezpečnou implantaci. Rohovková tkáň uchovaná v glycerolu vykazovala známky dehydratace za vzniku agregátů kolagenních fibril, bez signifikantního vlivu na snížení transparence tkáně. Tkáň kryopreservovaná v DMSO bez předchozí iradiace si zachovala pravidelné uspořádání kolagenních fibril za současného zachování transparence, pružnosti a měla tak vlastnosti nejpodobnější čerstvé rohovce skladované v hypotermii. (Obr.2 + 3)

Tabulka 1 – před implantací	4D skupina [D]±SD	8D skupina [D]±SD	p hodnota
Central pachymetry	903±124,59	921±96,58	NS
Thinnest local	671±109,10	733,35±69,60	NS
Kmax	45,57±2,78	42,22±1,54	NS
K1 front	38,73±2,23	38,1±2,06	NS
K2 front	42,84±2,15	40,46±1,64	NS
Km front	40,72±1,60	39,26±1,70	NS
Astigmatism front	-0,84±5,31	-0,285±1,30	NS
K1 back	- 4,74 ±1,05	-3,98±2,67	NS
K2 back	-5,92±1,10	-4,66±2,47	NS
Km back	-5,1±0,93	-4,76±0,59	NS
Astigmatism back	0,38±1,71	-0,285±1,30	NS

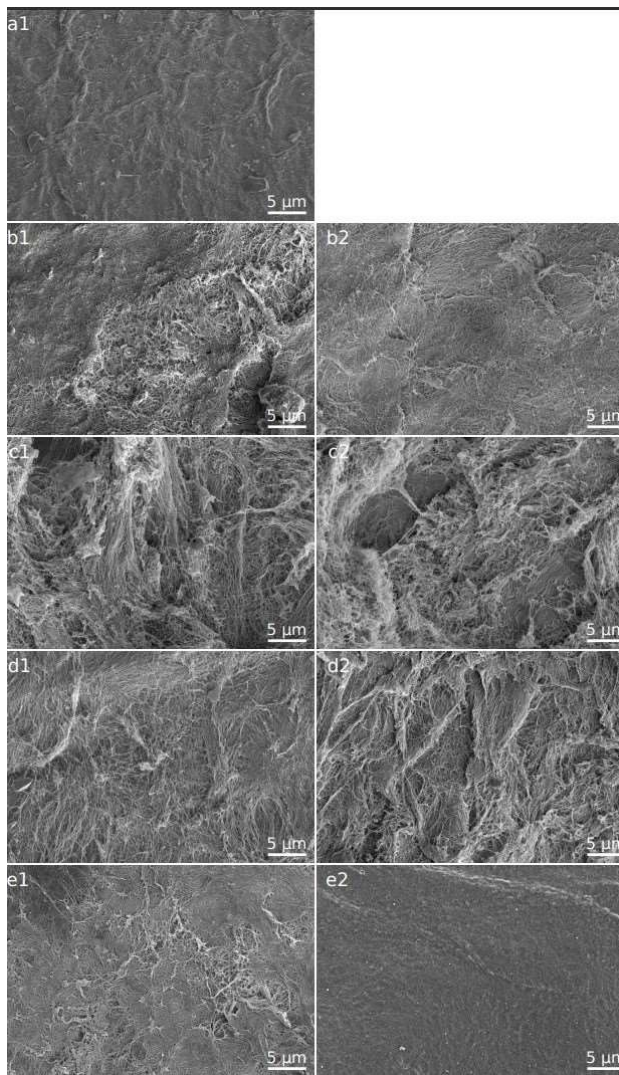
Tabulka 2 – po implantaci	4D skupina [D]±SD	8D skupina [D]±SD	p hodnota
Central pachymetry	1230±148,99	1109±161,64	NS
Thinnest local	670,75±182,76	698,25±203,12	NS
Kmax	72,07±16,83	62,95±12,67	NS
K1 front	41,23±9,58	44,81±10,19	NS
K2 front	49,98±19,83	51,51±9,63	NS
Km front	48,87±5,83	47,305±9,43	NS
Astigmatism front	6,21±14,12	0,07±8,42	NS
K1 back	-4,29±1,18	-3,93±1,82	NS
K2 back	-3,99±7,01	-4,96±2,69	NS
Km back	-4,13±3,19	-4,97±2,68	NS
Astigmatism back	-1,83±6,91	-0,24±2,97	NS

Obr. 1 Elektronmikroskopické snímky metod přípravy

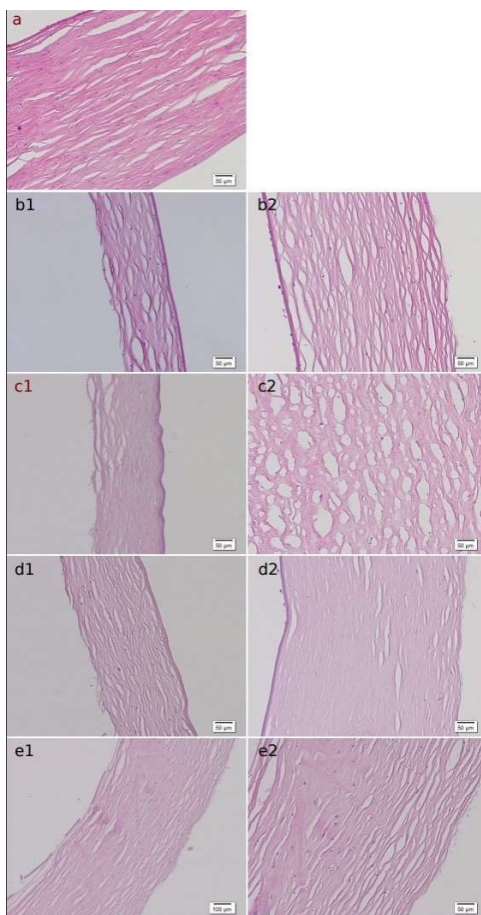


- a – povrch lamely vytvořené mikrokeratodem
- b – povrch rohovkové lamely vytvořené FS laserem
- c – povrch rohovkové lentikuly vytvořené FS laserem

Obr. 2 Elektronmikroskopické snímky metod uchování:



Obr.3 Histologické snímky rozdílných metod preservace



a1 – čerstvá rohovka, b1 – gamma ozářená lamela (přední stroma), glycerol; b2 - gamma ozářená lamela (zadní stroma), glycerol; c1 – gamma ozářená lamela (přední stroma) -80°DMSO; c2 – gamma ozářená lamela (zadní stroma) -80°DMSO; d1 – neozářená lamela (přední stroma), glycerol; d2 – neozářená lamela (zadní stroma), glycerol; e1 – neozářená lamela (přední stroma) -80°DMSO; e2 – neozářená lamela (zadní stroma) -80°DMSO

Diskuze

V první části naší studie jsme se zaměřili na hodnocení parametrů topografie rohovky na enukleovaných prasečích bulbech po implantaci bikonkávní stromální lentikuly. Oproti našim předpokladům se z výsledků měření zdá, že optická mohutnost lentikuly implantované v uniformní hloubce 300 um nemá signifikantní vliv na žádný ze sledovaných parametrů. Výsledky však mohly být do jisté míry ovlivněny použitím enukleovaných prasečích bulbů. Přestože prasečí rohovka má z dostupných animálních modelů největší podobnost s lidskou, její vyšší tloušťka může mít vliv na rozdíl v indukované změně zakřivení. Důležitou roli také hrají biomechanické vlastnosti prasečí rohovky, především její rozdílný poměr napětí-relaxace po implantaci lentikuly. Keratometrie mohla být dále ovlivněna průběžným měřením nitroočního tlaku, což však bylo nutné k zajištění validity pokusu a byl proveden na normotenzních bulbech. Důležitým výsledkem bylo také zhodnocení možné metody přípravy a uchování rohovkové stromální tkáně. Příprava pomocí femtosekundového laseru i mikrokeratomu se ukázala jako snadno proveditelná a bezpečná. Jednou z hlavních výhod laseru je možnost vytvořit více dárcovských štěpů z jedné rohovky, oproti tomu levnější příprava mikrokeratomem nám zajistí hladší a pravidelnější povrch řezu. Pomocí obou metod bylo možné stromální transplantát vytvořit i z rohovky, ze které byl předtím odebrán endotel na lamelární transplantaci typu DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty), což je tenká vrstva rohovkového endotelu a Descemetové membrány úspěšně využívaná například v léčbě pacientů s endotelovou dystrofií. Z metod uchování jsme se zaměřili na morfologické vlastnosti presevované tkáně. Na základě některých publikovaných prací se jako nadějná metoda zdála metoda decelularizace a

sterilizace pomocí gama záření. Nicméně sterilizace gama zářením 25 kGy se v našem experimentu ukázala jako nevhodná, došlo k poškození struktur rohovkové tkáně prokazatelné jak makroskopicky, tak pomocí elektronového mikroskopu a tkáně nebyly využitelné ani v dalších experimentech.

Analýzou tkání uchovaných v glycerolu jsme došli k podobným závěrům jako autoři dříve publikovaných prací, kteří popisují metodu jako bezpečnou k dlouhodobému uchování rohovkové tkáně. Strukturu nejpodobnější čerstvým rohovkám jsme zachytili u tkání uchovaných metodou kryopreservace, což korelovalo s její transparentí a a dobrou možností manipulace. Toto potvrzuje naši hypotézu, že se jedná o metodu vhodnou k dlouhodobému skladování rohovkové stromální tkáně.

Jsme si vědomi limitací našich experiment jako je malé množství vzorků a nemožnost analyzovat změny v konkrétním jednom vzorku před a po preservaci z důvodu fixačních procesů před histologickou I elektronmikroskopickou analýzou.

Závěry

Z našich výsledků plyne, že lentikuly vyšší optické mohutnosti implantované v uniformní hloubce rohovkového stromatu nemají signifikantně větší vliv na změnu refrakčních parametrů rohovky příjemce. Tloušťka lentikuly tedy nekoreluje s cílovou změnou topografie rohovky.

Ověřili jsme, že pomocí femtosekundového laseru jsme schopni z jedné dárcovské rohovky připravit pět 100um silných lamel či lentikul využitelných k dalším účelům za současné minimalizace reziduální nevyužité tkáně.

Zjistili jsme, že decelularizace rohovkové stromální tkáně gama zářením 25kGy vede k poškození kolagenních vláken vedoucí ke zvýšení rigidity a snížení transparence tkáně. Tato metoda se ukázala jako nevhodná pro klinické využití.

Potvrdili jsme, že kryopresevace zachovává vhodné vlastnosti rohovkové stromální tkáně a umožňuje bezpečné uchování tkáně s dlouhodobou využitelností. Na podkladě našich dat se domníváme, že použití kryopreservovaných rohovkových lentikul je bezpečná a efektivní metoda uchování prodlužující životnost dárcovské tkáně až na 2 roky.

Seznam vybrané použité literatury:

1. Bhandari V, Ganesh S, Brar S, Pandey R. Application of the SMILE-Derived Glued Lenticule Patch Graft in Microperforations and Partial-Thickness Corneal Defects. *Cornea*. březen 2016;35(3):408–12.
2. Wu F, Jin X, Xu Y, Yang Y. Treatment of corneal perforation with lenticules from small incision lenticule extraction surgery: a preliminary study of 6 patients. *Cornea*. červen 2015;34(6):658–63.
3. Yang H, Zhou Y, Zhao H, Xue J, Jiang Q. Application of the SMILE-derived lenticule in therapeutic keratoplasty. *Int Ophthalmol*. březen 2020;40(3):689–95.
4. Jin H, He M, Liu H, Zhong X, Wu J, Liu L, et al. Small-Incision Femtosecond Laser-Assisted Intracorneal Concave Lenticule Implantation in Patients With Keratoconus. *Cornea*. duben 2019;38(4):446–53.
5. Fasolo A, Galzignato A, Pedrotti E, Chierigo C, Cozzini T, Bonacci E, et al. Femtosecond laser-assisted implantation of corneal stroma lenticule for keratoconus. *Int Ophthalmol*. 24. únor 2021;
6. Pradhan KR, Reinstein DZ, Carp GI, Archer TJ, Gobbe M, Gurung R. Femtosecond laser-assisted keyhole endokeratophakia: correction of hyperopia by implantation of an allogeneic lenticule obtained by SMILE from a myopic donor. *J Refract Surg*. listopad 2013;29(11):777–82.
7. Sachdev MS, Gupta D, Sachdev G, Sachdev R. Tailored stromal expansion with a refractive lenticule for crosslinking the ultrathin cornea. *J Cataract Refract Surg*. květen 2015;41(5):918–23.
8. El Zarif M, Alió JL, Alió Del Barrio JL, De Miguel MP, Abdul Jawad K, Makdissy N. Corneal Stromal Regeneration: A

- Review of Human Clinical Studies in Keratoconus Treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:650724.
9. Ganesh S, Brar S, Rao PA. Cryopreservation of extracted corneal lenticules after small incision lenticule extraction for potential use in human subjects. *Cornea*. prosinec 2014;33(12):1355–62.
 10. Sun Y, Zhang T, Zhou Y, Liu M, Zhou Y, Yang X, et al. Reversible Femtosecond Laser-Assisted Endokeratophakia Using Cryopreserved Allogeneic Corneal Lenticule. *J Refract Surg*. 1. srpen 2016;32(8):569–76.
 11. Alio JL, Piñero DP, Daxer A. Clinical outcomes after complete ring implantation in corneal ectasia using the femtosecond technology: a pilot study. *Ophthalmology*. červenec 2011;118(7):1282–90.
 12. Sun L, Yao P, Li M, Shen Y, Zhao J, Zhou X. The Safety and Predictability of Implanting Autologous Lenticule Obtained by SMILE for Hyperopia. *J Refract Surg*. červen 2015;31(6):374–9.
 13. Mohamed-Noriega K, Toh KP, Poh R, Balehosur D, Riau A, Htoon HM, et al. Cornea lenticule viability and structural integrity after refractive lenticule extraction (ReLEx) and cryopreservation. *Mol Vis*. 2011;17:3437–49.
 14. Boschetti F, Triacca V, Spinelli L, Pandolfi A. Mechanical characterization of porcine corneas. *J Biomech Eng*. březen 2012;134(3):031003.
 15. Zeng Y, Yang J, Huang K, Lee Z, Lee X. A comparison of biomechanical properties between human and porcine cornea. *J Biomech*. duben 2001;34(4):533–7.
 16. Elsheikh A, Alhasso D, Rama P. Biomechanical properties of human and porcine corneas. *Exp Eye Res*. květen 2008;86(5):783–90.

17. Bao F, Jiang L, Wang X, Zhang D, Wang Q, Zeng Y. Assessment of the ex vivo biomechanical properties of porcine cornea with inflation test for corneal xenotransplantation. *J Med Eng Technol*. leden 2012;36(1):17–21.
18. Zheng X, Zhang D, Li S, Zhang J, Zheng J, Du L, et al. An Experimental Study of Femto-Laser in Assisting Xenograft Acellular Cornea Matrix Lens Transplantation. *Med Sci Monit*. 27. červenec 2018;24:5208–15.
19. Mastropasqua L, Nubile M, Salgari N, Mastropasqua R. Femtosecond Laser-Assisted Stromal Lenticule Addition Keratoplasty for the Treatment of Advanced Keratoconus: A Preliminary Study. *J Refract Surg*. 1. leden 2018;34(1):36–44.
20. Damgaard IB, Ivarsen A, Hjortdal J. Biological Lenticule Implantation for Correction of Hyperopia: An Ex Vivo Study in Human Corneas. *J Refract Surg*. 1. duben 2018;34(4):245–52.
21. Li M, Wei R, Yang W, Shang J, Fu D, Xia F, et al. Femtosecond Laser-Assisted Allogenic Lenticule Implantation for Corneal Ectasia After LASIK: A 3-Year In Vivo Confocal Microscopic Investigation. *J Refract Surg*. 1. listopad 2020;36(11):714–22.
22. Heichel J, Wilhelm F, Kunert KS, Hammer T. Topographic Findings of the Porcine Cornea. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. Winter 2016;5(4):125–31.
23. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol*. únor 2016;134(2):167–73.
24. Singh R, Gupta N, Vanathi M, Tandon R. Corneal transplantation in the modern era. *Indian J Med Res*. červenec 2019;150(1):7–22.

25. Garrido C, Cardona G, Güell JL, Pujol J. Visual outcome of penetrating keratoplasty, deep anterior lamellar keratoplasty and Descemet membrane endothelial keratoplasty. *J Optom.* září 2018;11(3):174–81.
26. Ehlers N, Hjortdal J, Nielsen K. Corneal grafting and banking. *Dev Ophthalmol.* 2009;43:1–14.
27. Oganesyán OG, Neroev VV, Grdikanyan AA, Getadaryan VR. Five Keratoplasties From One Donor Cornea. *Cornea.* květen 2018;37(5):667–71.
28. Vajpayee RB, Sharma N, Jhanji V, Titiyal JS, Tandon R. One donor cornea for 3 recipients: a new concept for corneal transplantation surgery. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. duben 2007;125(4):552–4.
29. Shang Y, Li Y, Wang Z, Sun X, Zhang F. Risk Evaluation of Human Corneal Stromal Lenticules From SMILE for Reuse. *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995. 1. leden 2021;37(1):32–40.

Seznam publikací doktoranda in extenso:

1. Publikace v časopise s impact factorem se vztahem k disertaci:

Nemcokova M, Dite J, Klimesova YM, Netukova M, Studeny P. Preservation of corneal stromal lenticule: review. Cell Tissue Bank. 2022 Dec (IF 1,939)

Polachova M, Netukova M, Sykora R, Studeny P. Refractive outcome after corneal lenticule implantation - ex vivo non-human study; časopis *Current Eye Research* (IF 2,555), Manuscript ID: 2192447

Polachova M, Netukova M, Benada O, Kucera T, Kolin V, Baxant A, Sirolova Z, Studeny P. The new future perspective in corneal tissue utilisation – methods of preparation and preservation. BMC Ophthalmology (IF 2,086) – přijato 16/6/2023

Min Klimesova Y, **Nemcokova M**, Netukova M, Baxant AD, Hlavackova M, Kacerovska J, Studeny P. Corneal stromal lenticule transplantation for the treatment of corneal ulcers. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2023 Jan 25. (IF 1,648)

2. publikace v časopise s IF bez vztahu k tématu dizertace: Studeny P, Netukova M, **Nemcokova M**, Klimesova YM, Krizova D. Effect of the position of the corneal lamella on the frequency of its detachment. Int J Ophthalmol. 2022 Dec 18. (IF 1,57)

Baxant AD, Klimešová YM, Holubová L, Pluhovský P, Bartošová J, Veselý Ľ, **Nemčoková M**, Rosina J, Studený P. Efficacy and Safety of Deep Sclerectomy With the Esnoper Clip Implant

for Uncontrolled Primary Open Angle Glaucoma: A 1 Year
Prospective Study. J Glaucoma. 2023 Mar (IF 2,503).