

I. ОБЗОРЫ / REVIEWS

doi: 10.18008/1816-5095-2016-2-56-61

Кросслинкинг: методические подходы и применение в офтальмологии



И. Б. Медведев



В. Ю. Евграфов



Дергачева Н. Н.

ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, ул. Островитянова 1, Москва, 117997, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ**Офтальмология. 2016; 13 (2): 56-61**

Кросслинкинг роговицы был разработан в конце прошлого века и радикально поменял подходы к лечению прогрессирующих эктазий роговицы. Чтобы достичь укрепления ткани роговицы, облучение ультрафиолетом А комбинируют с использованием рибофлавина. Рибофлавин играет роль фотосенсибилизатора в процессе фотополимеризации и при ультрафиолетовом облучении увеличивает образование меж- и интрафибриллярных ковалентных связей. Стандартный протокол операции включает скарификацию эпителия, 30-минутную аппликацию 0.1% раствора рибофлавина с последующим 30 мин. облучением ультрафиолетом А с длиной волны 370 нм и мощностью 3 мВт/см². Отсутствие эффекта от проведения стандартной процедуры определяется как увеличение преломляющей силы роговицы на 1 D после лечения и наблюдается в 8.1-33.3% случаев. Относительно частым осложнением стандартной процедуры кросслинкинга (10-90%) является роговичный хэйз. Описан ряд случаев инфекционного кератита, включая бактериальный, протозойный и грибковый. Редкими осложнениями после стандартной процедуры кросслинкинга являются диффузный ламеллярный кератит, расплавление роговицы и эндотелиально-эпителиальная дистрофия. После инстилляций рибофлавина его диффузия в строму роговицы лимитируется плотными контактами между эпителиальными клетками, вследствие этого при кроссликинге зачастую прибегают к предварительной скарификации эпителия. Однако именно эта манипуляция является причиной таких осложнений кросслинкинга, как интра- и послеоперационные боли, инфекционный кератит и вялая регенерация эпителия. Проницаемость эпителия для рибофлавина можно усилить несколькими способами, например, модифицируя физико-химические свойства молекулы рибофлавина или повышая проницаемость эпителия, например, с помощью инстилляций 40%-ного раствора глюкозы. Было показано, что проведение электрофореза с рибофлавином в течение 5 мин. позволяет достичь его концентрации в роговице, достаточной для выполнения кросслинкинга. Предпринимаются также попытки уменьшить время проведения операции кросслинкинга путем повышения мощности облучения роговицы ультрафиолетом. В единичных исследованиях сообщается об успешном использовании роговичного кросслинкинга в сочетании с фоторефракционной кератэктомией и интракорнеальными кольцами, а также для лечения инфекционных кератитов и эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы.

Ключевые слова: кросслинкинг, роговица, эндотелиально-эпителиальная дистрофия, инфекционный кератит.

Формат цитирования: И. Б. Медведев, В. Ю. Евграфов, Дергачева Н. Н. Кросслинкинг: методические подходы и применение в офтальмологии. Офтальмология. 2016;13 (2): 56-61 doi: 10.18008/1816-5095-2016-2-56-61

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах
Конфликт интересов отсутствует

ENGLISH

Crosslinking: methodological approaches and application in ophthalmology

I. B. Medvedev, V. Ju. Evgrafov, N. N. Dergacheva

Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia

SUMMARY

Crosslinking of the cornea was developed at the end of the last century and radically changed approaches to the treatment of progressive corneal ectasia. To achieve the strengthening of the corneal tissue irradiation with ultraviolet light and is combined with the use of Riboflavin. Riboflavin plays a role of a photosensitizer in the process of photopolymerization and ultraviolet irradiation increases the formation of inter- and intrafibrillary covalent bonds. Standard Protocol operation involves the scarification of epithelium, a 30-minute application of 0.1% solution of Riboflavin with subsequent 30 min. irradiation with ultraviolet light with A wavelength of 370 nm and 3 mW/cm². The lack of effect of routine procedures is defined as the increase in refractive power of the cornea by 1 Diopter. after treatment and observed in 8.1-33.3% of cases. A relatively frequent complication of the standard procedure of crosslinking (10-90%) is corneal haze. A number of cases of infectious keratitis, including bacterial, protozoan and fungal forms is registered. Rare complications after standard procedure of crosslinking are diffuse lamellar keratitis, melting corneal and endothelial-epithelial dystrophy. After instillation of Riboflavin its diffusion in the corneal stroma is limited by a dense contacts between epithelial cells, resulting in crosslinking often resort to preliminary scarification of epithelium. However, this manipulation is the cause of the complications of crosslinking, as intra- and postoperative pain, infectious keratitis and lethargic regeneration of the epithelium. The permeability of the epithelium for Riboflavin can be enhanced in several ways, for example, modifying physico-chemical properties of Riboflavin molecules or increasing the permeability of the epithelium, for example, by instillation of a 40% strength solution of glucose. It was shown that the conducting electrophoresis with Riboflavin for 5 minutes, allows to reach a concentration in the cornea sufficient to conduct the crosslinking. There have also been attempts to reduce the time of the operation of crosslinking by increasing the power of irradiation of cornea with ultraviolet light. In single studies reported on the successful use of corneal crosslinking combined with photorefractive keratectomy and intracorneal the rings, as well as for the treatment of infectious keratitis and endothelial-epithelial dystrophy of the cornea.

Keywords: crosslinking, cornea, endothelial-epithelial dystrophy, infectious keratitis.

For citation: I. B. Medvedev, V. Ju. Evgrafov, N. N. Dergacheva. Crosslinking: methodological approaches and application in ophthalmology. *Ophthalmology in Russia*. 2016;13 (2): 56-61 doi: 10.18008/1816-5095-2016-2-56-61

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

There is no conflict of interests.

Ophthalmology in Russia. 2016; 13 (2): 56-61

Эктазия роговицы — прогрессирующее истончение роговицы, связанное с нарушениями в строении коллагенового матрикса, которые приводят к протрузии роговицы. Первичные формы включают кератоконус, прозрачную краевую дегенерацию и кератоглобус, а вторичные являются, в основном, следствием рефракционной хирургии [1]. Частота развития кератоконуса составляет, по данным ряда эпидемиологических исследований, от 1.3 до 22.3 на 100000 [2]. Частота корнеальных эктазий после рефракционных операций не изучена до сих пор, однако известно, что после LASIK она составляет 0.04-0.6%. На эктазии после LASIK приходится около 96% всех вторичных эктазий после рефракционной хирургии, а остальные 4% связаны с ФПК [3].

Кератоконус обычно развивается на второй декаде жизни, вызывая постепенное увеличение кривизны роговицы в течение следующих 20 лет до тех пор, пока форма роговицы не станет стабильной [4]. Консервативные методы лечения кератоконуса включают использование очков и впоследствии — контактных линз. Хирургическое вмешательство может понадобиться, если у пациента есть непереносимость контактных линз или не удастся с их помощью добиться адекватной остроты зрения. В этих случаях может помочь имплантация интракорнеальных колец, которая

позволяет добиться правильной фиксации контактных линз и восстановления остроты зрения. На поздних стадиях заболевания или в случае рубцовых изменений центральной зоны роговицы, пересадка роговицы является единственным способом лечения [1]. При этом методом выбора представляется частичная послойная или сквозная кератопластика.

До внедрения в клиническую практику кросслинkingа все методы лечения кератоконуса были направлены на нормализацию рефракционных параметров, а не на влияние на патогенез заболевания. Кросслинking роговицы был разработан в конце 90-х гг. прошлого века, прошел путь от интересной концепции укрепления стромы роговицы до внедрения в клиническую практику, при этом радикально изменились подходы к лечению прогрессирующих эктазий роговицы [5].

Основные принципы кросслинkingа роговицы

Главная цель кросслинkingа — остановить прогрессирующее истончение роговицы. Чтобы достичь укрепления ткани роговицы, облучение ультрафиолетом А комбинируют с использованием рибофлавина. Рибофлавин играет роль фотосенсибилизатора в процессе фотополимеризации и при ультрафиолетовом облучении увеличивает образование меж- и интрафибриллярных ковалентных связей с помощью процес-

сов, которые на молекулярном уровне до конца не изучены [1].

Показано, что на ранней, аэробной, фазе кросслинкинга происходит возбуждение молекул рибофлавина до синглетного или триплетного состояния, а стромальные протеины подвергаются фотохимическому окислению с участием реактивных производных кислорода [6]. Во время второй, анаэробной, фазы, когда содержание кислорода снижается, происходит взаимодействие фибрилл со свободными радикалами. Эта фотохимическая реакция вызывает увеличение ригидности роговицы, толщины коллагеновых фибрилл и сопротивления воздействию ферментов с последующим снижением стромального отека и проницаемости, особенно в передних слоях роговицы.

Результаты экспериментальных исследований

В настоящее время фотохимический эффект кросслинкинга не удается наблюдать с помощью микроскопии или методов окрашивания. Однако кросслинкинг вызывает ряд изменений в коллагенсодержащих тканях, что является косвенными признаками его воздействия. Так, в исследованиях роговицы человека и свиньи на разрывных машинах было установлено увеличение ригидности после кросслинкинга. Укрепляющий эффект был сильнее выражен в более зрелых тканях и при высоком содержании коллагена [7,8]. Кроме того, сообщалось, что после кросслинкинга роговицы у свиней имела место меньшая склонность к набуханию и гидратации [9]. В исследованиях *ex vivo* роговицы человека и кролика зафиксировано увеличение толщины коллагеновых фибрилл после кросслинкинга [10,11]. Результаты экспериментальных исследований показали, что кросслинкинг увеличивает устойчивость роговицы к действию пепсина, трипсина и коллагеназы, а также время обновления коллагена [12].

Показания к кросслинкингу

Не во всех случаях кератоконуса следует проводить кросслинкинг. Главная задача этой процедуры — остановить прогрессирование корнеальной эктазии. Соответственно, лечению подлежат, прежде всего, пациенты с документированным прогрессированием заболевания. Хотя критерии прогрессирования эктазий роговицы не определены, следует учитывать изменения рефракции, остроты зрения без коррекции и с коррекцией, а также топографические параметры. Во многих работах критерием прогрессирования считалось увеличение преломляющей силы роговицы на одну диоптрию в год и более или рост миопической рефракции и/или астигматизма на три и более диоптрии в течение 6 месяцев. Кроме того, имело место увеличение средней преломляющей силы роговицы на полторы диоптрии и более за последние 6 месяцев (при трех последовательных исследованиях топогра-

фии роговицы). Еще одним критерием прогрессирования считалось уменьшение средней толщины роговицы в центральном отделе на 5% и более за последние 6 месяцев (по данным 3-х последовательных исследований при оптической когерентной томографии). Противопоказаниями к проведению кросслинкинга являются уменьшение толщины роговицы менее чем 400 мкм, эпизод герпетической инфекции в анамнезе, выраженное рубцевание или помутнение, низкая скорость эпителизации, патология иммунной системы, беременность и грудное вскармливание [13,14,15].

Стандартная методика и клинические результаты

Стандартный дрезденский протокол, описанный Wollensack et al. включает скарификацию эпителия, 30-минутную аппликацию 0.1% раствора рибофлавина с последующим 30 мин. облучением ультрафиолетом А с длиной волны 370 нм и мощностью 3 мВт/см² (5.4 J/cm²) [16].

В последние годы в целом ряде проспективных и ретроспективных исследований с длительным периодом наблюдения была доказана эффективность использования стандартной процедуры для стабилизации прогрессирования первичных и вторичных эктазий роговицы, во многих случаях с улучшением зрительных функций и топографических показателей [17,18]. В большинстве работ оцениваются такие параметры как максимальная кривизна роговицы и острота зрения с коррекцией. Период наблюдения составляет от 1 года до 6 лет. Все авторы отмечают уплощение роговицы и стабилизацию или улучшение остроты зрения после стандартной *epi-off* процедуры кросслинкинга.

Ограничения и осложнения при стандартной процедуре кросслинкинга

Отсутствие эффекта от проведения стандартной процедуры (определяется как увеличение преломляющей силы роговицы на одну диоптрию после лечения) наблюдается в 8.1-33.3% случаев.

Poli с соавт. наблюдали отсутствие эффекта в 11% случаев в течение 6 лет после стандартной процедуры. Прогрессирующим считался кератоконус, если у пациента имело место увеличение на 0.1 logMAR некорректированной и корректированной остроты зрения и/или увеличение значений кератометрии на 0.5 D в течение периода наблюдения [18].

Относительно частым осложнением стандартной процедуры кросслинкинга (10-90%) является роговичный хэйз. В настоящее время нет четких представлений относительно этиологии и естественного течения роговичного хэйза [19]. Конфокальная микроскопия *in vivo* в этих случаях выявляет повышенную рефлексивность стромы, связанную с отеком и активацией кератоцитов, в основном, в первые 3-6 мес. после лечения.

В позднем послеоперационном периоде в передних и средних слоях стромы наблюдается снижение плотности клеток и фиброз межклеточного матрикса [20].

Описан ряд случаев инфекционного кератита, включая бактериальный, протозойный и грибковый [21].

Редкими осложнениями после стандартной процедуры кросслинкинга являются диффузный ламеллярный кератит, расплавление роговицы и эндотелиально-эпителиальная дистрофия [22,23,24].

Внедрение трансэпителиальной методики кросслинкинга

После инстилляции рибофлавина его диффузия в строму роговицы лимитируется плотными контактами между эпителиальными клетками [25, 26], вследствие этого при кросслинкинге зачастую прибегают к предварительной скарификации эпителия. Однако именно эта манипуляция является причиной таких осложнений кросслинкинга, как интра- и послеоперационные боли, инфекционный кератит и вялая регенерация эпителия [27, 28]. Проницаемость эпителия для рибофлавина можно усилить несколькими способами, например, модифицируя физико-химические свойства молекулы рибофлавина или повышая проницаемость эпителия.

Так, нами была разработана собственная модификация трансэпителиального кросслинкинга [29]. Способ включает пропитывание роговицы глаза 0,1% раствором рибофлавина и последующее ее облучение ультрафиолетом с длиной волны 365-375 нм в течение 30 мин. При этом перед пропитыванием роговицы 0,1% раствором рибофлавина на 30 мин. на нее наносят 40% раствор глюкозы, выдерживают его в течение 9-11 мин., затем остатки раствора глюкозы удаляют. В настоящее время мы проводим цикл исследований с целью обоснования применения данного метода в клинической практике.

За рубежом для кросслинкинга выпускается препарат рибофлавина на основе 20% декстрана. В Уфимском НИИ глазных болезней предложен и запатентован протектор роговицы для кросслинкинга «Декстралинк», содержащий рибофлавин и дополнительно декстран в изотоническом растворе с консервантом [30]. Введение полимера в состав раствора существенно повышает его вязкость и обеспечивает требуемый пролонгированный контакт фоточувствительного рибофлавина с роговицей. Кроме того, декстран обладает противоотечными и дезинтоксикационными свойствами. Использование раствора «Декстралинк» позволило в 4-6 раз сократить число инстилляций лекарственных средств.

С помощью конфокальной микроскопии было показано *in vivo*, что при увеличении длительности аппликации рибофлавина до 2-х часов глубина распространения эффекта от кросслинкинга аналогична та-

ковой при методике *эпи-off* [31]. Хотя уровень осложнений при трансэпителиальном варианте операции значительно ниже, эффективность метода до сих пор остается предметом дискуссий [32].

Электрофорез

Сравнительно новым подходом для увеличения проникновения в роговицу рибофлавина является использование электрофореза. Методика насыщения роговицы рибофлавином с помощью электрофореза была запатентована Медведевым И. Б. с соавт. в 2005 г. [33]. Позднее подобные работы были выполнены за рубежом [34]. Было показано, что проведение электрофореза с рибофлавином в течение 5 мин. позволяет достичь его концентрации в роговице, достаточной для проведения кросслинкинга. Таким образом, время проведения процедуры сокращается почти в 2 раза, и отпадает необходимость проведения скарификации эпителия.

В ряде работ *ex vivo* было показано, что электрофоретическое насыщение роговицы рибофлавином вызывает существенные биомолекулярные и структурные модификации роговичной ткани [34]. Биомеханические исследования роговицы кролика и человека *ex vivo* установили, что трансэпителиальный кросслинking с электрофоретическим насыщением роговицы рибофлавином вызывает изменения биомеханических характеристик роговицы, сравнимые с таковыми при стандартной процедуре. Осложнения при данной методике практически отсутствуют. Однако требуются дополнительные исследования на большей выборке с длительным периодом наблюдения, чтобы установить реальную эффективность данной методики. В Уфимском НИИ глазных болезней был разработан отечественный аппарат «УФалинк» для проведения электрофоретического насыщения роговицы рибофлавином.

Ускоренный роговичный кросслинking

Внедрение данной методики — это попытка уменьшить время проведения кросслинкинга. Методика основана на законе фотохимической реципрокности Bunsen-Roscoe, согласно которому тот же фотохимический эффект может быть достигнут за меньший интервал облучения при соответствующем увеличении его интенсивности [1]. В настоящее время имеющиеся в продаже установки позволяют получить мощность до 43 мВт/см². При такой мощности время проведения кросслинкинга сокращается до 2-х минут [1]. В ряде исследований, проводившихся по различным протоколам, были доказаны эффективность и безопасность ускоренного кросслинкинга при лечении эктазий роговицы.

В последние годы был проведен ряд исследований, в которых сравнивалась эффективность кросслинкинга, выполненного с помощью различных методик. [35]. И, хотя протоколы их проведения, методики лечения

и период наблюдения весьма различны, в целом создается впечатление, что трансэпителиальная методика при меньшем числе осложнений обладает меньшей эффективностью. Она идеально подходит для пациентов с тонкой роговицей, для тех, с кем трудно установить контакт или для тех, у кого прогрессирование эктазии недостаточно документировано. При этом отсутствует стандартизация проведения ускоренного кросслинkinга, недостаточно подтверждена его безопасность. Для оптимизации проведения кросслинkinга требуется выполнение рандомизированных контролируемых исследований с хорошо проработанным дизайном для сравнения традиционной и альтернативных методик.

Альтернативное использование роговичного кросслинkinга

В единичных исследованиях сообщается об успешном использовании роговичного кросслинkinга в сочетании с фоторефракционной кератэктомией [36] и интракорнеальными кольцами [37]. Однако результаты этих исследований противоречивы, поэтому требуются дальнейшие исследования для уточнения безопасности и эффективности предлагаемых протоколов.

Инфекционные кератиты.

Кросслинkinг обладает антимикробным эффектом, который потенцируется за счет взаимодействия с рибофлавином. При этом повреждается ДНК и РНК бактерий и вирусов, делая их неактивными [38]. Фотоактивированный рибофлавин используется для инактивации патогенных бактерий в плазме, тромбоцитарной и эритроцитарной массе [39].

Так как рибофлавин обладает сродством к нуклеиновым кислотам и вызывает преимущественно избирательное окисление, была выдвинута гипотеза о возможности его использования для элиминации патогенных микробов при инфекционном кератите. Сообщалось об антимикробном эффекте рибофлавина, активированного ультрафиолетом, в экспериментах *in vitro* на *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Candida albicans*. При этом ультрафиолет сам по себе в меньшей степени тормозил рост микробов, а рибофлавин в отсутствие ультрафиолета не обладал

антимикробной активностью [40].

Первое сообщение об использовании кросслинkinга для лечения инфекционного кератита в клинике было опубликовано в 2008 г. Iseli et al [41]. Авторы сообщили о заживлении в 4 из 5 случаев расплавления роговицы в результате грибкового и микобактериального кератита. Аналогичные результаты приводят в своем обзоре Alio et al. в 2013 г. [42]. Said et al в 2014 г. опубликовал результаты лечения 21 глаза с инфекционным кератитом с помощью роговичного кросслинkinга и антимикробной терапии. В контрольной группе из 19 глаз проводилась только антимикробная терапия. При этом не было обнаружено значимых различий между этими группами ни в сроках эпителизации, ни по остроте зрения. Однако в группе, где проводили кросслинkinг, не было осложнений, а в контроле наблюдалось 3 случая перфорации и 1 случай рецидива заболевания. Авторы считают, что роговичный кросслинkinг позволяет избежать осложнений и снизить потребность в экстренной кератопластике при инфекционных кератитах [43].

Эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы

При отеке роговицы вследствие декомпенсации эндотелия корнеальный кросслинkinг увеличивает резистентность к отеку. Действительно, увеличенное число межфибриллярных связей не позволяет жидкости раздвинуть коллагеновые ламели и создать пространство для увеличения отека. Было предложено использовать роговичный кросслинkinг как альтернативный метод лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы (ЭЭД), позволяющий уменьшить дискомфорт, улучшить остроту зрения и уменьшить потребность в кератопластике [44].

В клинических исследованиях, оценивающих эффективность кросслинkinга при ЭЭД, отмечается достоверное повышение прозрачности роговицы, уменьшение её толщины и купирование боли через 1 мес. после операции. Однако по данным других авторов [45,46] длительность этого улучшения не превышает 6 мес.

Мнение авторов может не совпадать с позицией редакции

поступила 14.03.16 / received 14.03.16

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. ASCRS Cornea Clinical Committee. Reshaping procedures for the surgical management of corneal ectasia. *J Cataract Refract Surg.* 2015;41:842-72.
2. Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneur E, Liu Y. The genetic and environmental factors for Keratoconus. *Biomed Res Int.* 2015;2015:795-738.
3. Randleman JB, Woodward M, Lynn MJ, Stulting RD. Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery. *Ophthalmology.* 2008;115:37-50.
4. Vazirani J, Basu S. Keratoconus: current perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2013;7:2019-30.
5. Randleman JB, Khandelwal SS, Hafezi F. Corneal cross-linking. *Surv Ophthalmol.* 2015;60 (6):509-23. doi:10.1016/j.survophthal.2015.04.002.
6. Kamaev P, Friedman MD, Sherr E, Muller D. Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:2360-7.
7. Kohlhaas M, Spoerl E, Schilde T, Unger G, Wittig C, Pillunat LE. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light. *J Cataract Refract Surg.* 2006;32 (2):279-83.
8. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress – strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29 (9):1780-5.

9. Wollensak G, Aurich H, Pham DT, Wirbelauer C. Hydration behavior of porcine cornea crosslinked with riboflavin and ultraviolet A. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33(3):516-21.
10. Akhtar S, Almubrad T, Paladini I, Mencucci R. Keratoconus corneal architecture after riboflavin/ultraviolet A cross-linking: ultrastructural studies. *Mol Vis.* 2013;19:1526-37.
11. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. *Cornea.* 2004;23(5):503-7.
12. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res.* 2004;29(1):35-40.
13. Alhayek A, Lu PR. Corneal collagen crosslinking in keratoconus and other eye disease. *Int J Ophthalmol.* 2015;18(8):407-18.
14. Raiskup F, Spoerl E. Corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A. Part II. Clinical indications and results. *Ocul Surf.* 2013;11:93-108.
15. Vinciguerra P, Albe E, Traza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, et al. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. *Ophthalmology.* 2009;116:369-78.
16. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet – a-induced collagen cross-linking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2003;135:620-7.
17. Lang SJ, Messmer EM, Geerling G, Mackert MJ, Brunner T, Dollak S, et al. Prospective, randomized, double-blind trial to investigate the efficacy and safety of corneal cross-linking to halt the progression of keratoconus. *BMC Ophthalmol.* 2015;15:78.
18. Poli M, Lefevre A, Auxenfans C, Burillon C. Corneal collagen cross-linking for the treatment of progressive Corneal Ectasia: 6-year prospective outcome in a French population. *Am J Ophthalmol.* 2015;160(4):654-62.
19. Shalchi Z, Wang X, Nanavaty MA. Safety and efficacy of epithelium removal and transepithelial corneal collagen crosslinking for keratoconus. *Eye (Lond).* 2015;29:15-29.
20. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, Calienno R, Mastropasqua R, Agnifili L, et al. Morphological modification of the cornea after standard and transepithelial corneal cross-linking as imaged by anterior segment optical coherence tomography and laser scanning in vivo confocal microscopy. *Cornea.* 2013;32:855-61.
21. Abbouda A, Abicca I, Alio JL. Infectious keratitis following corneal crosslinking: a systematic review of reported cases: management, visual outcome, and treatment proposed. *Semin Ophthalmol.* 2014;13:1-7.
22. Ferrari G, Iuliano L, Viganò M, Rama P. Impending corneal perforation after collagen cross-linking for herpetic keratitis. *J Cataract Refract Surg.* 2013;39: 638-41.
23. Kymionis GD, Bouzoukis DI, Diakonios VF, Portaliou DM, Pallikaris AI, Yoo SH. Diffuse lamellar keratitis after corneal crosslinking in a patient with post-laser in situ keratomileusis corneal ectasia. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:2135-7.
24. Sharma A, Nottage JM, Mirchia K, Sharma R, Mohan K, Nirankari VS. Persistent corneal edema after collagen cross-linking for keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2012;154:922-6.
25. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35:893-9.
26. Mannermaa E, Vellonen KS, Urtti A. Drug transport in corneal epithelium and blood-retina barrier: emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2006;58:1136-63.
27. Abdelghaffar W, Hantera M, Elsabagh H. Corneal collagen cross-linking: promises and problems. *Br J Ophthalmol.* 2010;94:1559-60.
28. Ashwin PT, McDonnell PJ. Collagen cross-linkage: a comprehensive review and directions for future research. *Br J Ophthalmol.* 2010;94:965-70.
29. Evgrafov VY, IB Medvedev, Medvedev NI, Bagrov SN, RS Kemov [A method of treating keratoconus cornea]. Patent for invention RU 2542799, 28.01.2015. (in Russ.).
30. MM Bikbov, GM Bikbova, VK Surkov, NB Zainullina [Clinical results of the treatment of keratoconus by corneal collagen transepithelial crosslinking]. *Klinicheskie rezultaty lechenija keratokonusa metodom transepitelial'nogo krosslinkinga rogovichnogo kollagena.* [Ophthalmology]. 2016;13(1):4-9. (in Russ.).
31. Acar BT, Utine CA, Ozturk V, Acar S, Ciftci F. Can the effect of transepithelial corneal collagen cross-linking be improved by increasing the duration of topical riboflavin application? An in vivo confocal microscopy study. *Eye Contact Lens.* 2014;40(4):207-12.
32. Lesniak SP, Hersh PS. Transepithelial corneal collagen crosslinking for keratoconus: six-month results. *J Cataract Refract Surg.* 2014;40:1971-9.
33. B Medvedev, Medvedev NI, Bagrov SN [Treatment of keratoconus by cross-linking]. M., 2010. –110 p. (in Russ.).
34. Mastropasqua L, Lanzini M, Curcio C, Calienno R, Mastropasqua R, Colasante M, et al. Structural modifications and tissue response after standard epi-off and iontophoretic corneal crosslinking with different irradiation procedures. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55:2526-33.
35. Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RM, Ajani A, Jayadev C, Sharma C, et al. Current protocols of corneal collagen cross-linking: visual, refractive, and tomographic outcomes. *Am J Ophthalmol.* 2015;160:243-9.
36. Alpíns N, Stamatelatos G. Customized photoastigmatic refractive keratectomy using combined topographic and refractive data for myopia and astigmatism in eyes with forme fruste and mild keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:591-602.
37. Kılıç A, Kamburoglu G, Akıncı A. Riboflavin injection into the corneal channel for combined collagen crosslinking and intrastromal corneal ring segment implantation. *J Cataract Refract Surg.* 2012;38:878-83.
38. Tabibian D, Richoz O, Hafezi F. PACK-CXL: Corneal Cross-linking for Treatment of Infectious Keratitis. *J Ophthalmic Vis Res.* 2015;10:77-80.
39. Goodrich RP. The use of riboflavin for inactivation of pathogens in blood products. *Vox Sang.* 2000;78:211-5.
40. Martins SA, Combs JC, Noguera G, Camacho W, Wittmann P, Walther R, et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(8):3402-8.
41. Iseli HP, Thiel MA, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea.* 2008;27:590-4.
42. Alio JL, Abbouda A, Valle DD, Del Castillo JM, Fernandez JA. Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2013;3:47.
43. Said DG, Elalfy MS, Gatzoufouf Z, El-Zakouk ES, Hassan MA, Saif MY, et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology.* 2014;121:1377-82.
44. Sorkin N, Varssano D. Corneal collagen crosslinking: a systematic review. *Ophthalmologica.* 2014;232:10-27.
45. Ghanem RC, Santhiago MR, Berti TB, Thomaz S, Netto MV. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A in eyes with pseudophakic bullous keratopathy. *J Cataract Refract Surg.* 2010;36:273-6.
46. Sharma N, Roy S, Maharana PK, Sehra SV, Sinha R, Tandon R, et al. Outcomes of corneal collagen crosslinking in pseudophakic bullous keratopathy. *Cornea.* 2014;33:243-6.

Сведения об авторах

Медведев Игорь Борисович, д.м.н., профессор кафедры офтальмологии ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ул. Островитянова 1, Москва, 117997, Российская Федерация. glazmed@list.ru

Евграфов Владимир Юрьевич, д.м.н., профессор, кафедра офтальмологии ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ул. Островитянова 1, Москва, 117997, Российская Федерация. evgrafov@lidt.ru

Дергачёва Надежда Николаевна, аспирант кафедры офтальмологии ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ул. Островитянова 1, Москва, 117997, Российская Федерация. deb20052005@yandex.ru

Affiliation

Medvedev Igor Borisovich, MD, professor. Ophthalmology department of Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia. glazmed@list.ru

Evgrafov Vladimir Urjevich, MD, ophthalmology department of Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia. evgrafov@lidt.ru

Dergacheva Nadejda Nikolaevna, postgraduate ophthalmology department of Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia. deb20052005@yandex.ru