

Оценка безопасности кросслинкинга склеры с рибофлавином/UVA в эксперименте



М.Н. Астрелин



В.К. Суркова

ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»
ул. Пушкина, 90, Уфа, 450008, Россия

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2019;16(1S):108–111

Цель — оценить безопасность кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А (UVA) в эксперименте *in vivo*. **Пациенты и методы.** Исследование проводили на 34 кроликах породы Шиншилла (68 глаз). Правые глаза были опытными (34 глаза), левые служили контролем (34 глаза). Кросслиннинг склеры (SCXL) выполняли с насыщением склеры фотосенсибилизатором (0,1 % водный раствор рибофлавина) в течение 20 минут и последующим облучением ультрафиолетом А (длина волны 370 ± 5 нм, плотность мощности излучения — 3 мВт/см^2), суммарное время облучения — 30 минут (6 циклов по 5 минут). Влияние процедуры на анатомо-функциональное состояние оболочек глаза оценивали с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) высокого разрешения и электроретинографии (ЭРГ) до проведения кросслинкинга, через сутки, 7 и 30 дней после него. **Результаты.** ОКТ не выявила каких-либо патологических изменений после проведения кросслинкинга склеры с рибофлавином/UVA. На снимках четко визуализировались слои сетчатки, хориоидея и склера. Проведенный морфометрический анализ показал отсутствие статистически значимого изменения толщины оболочек глаз после ультрафиолетового кросслинкинга. Волны ЭРГ экспериментального и контрольного глаза кроликов во все сроки наблюдения имели классический вид и были хорошо выражены, что свидетельствует об удовлетворительном функциональном состоянии нейрорецепторного аппарата сетчатки. Статистически достоверной разницы между исследованными группами выявлено не было. **Заключение.** Для проведения ультрафиолетового кросслинкинга использовали UVA мощностью 3 мВт/см^2 в течение 30 минут и 0,1 % водный раствор рибофлавина без декстрана и не выявили побочных эффектов процедуры. Таким образом, при данных параметрах кросслиннинг склеры с рибофлавином/UVA был безопасен для оболочек глаза в эксперименте *in vivo*.

Ключевые слова: кросслиннинг, склера, эксперимент, оптическая когерентная томография

Для цитирования: Астрелин М.Н., Суркова В.К. Оценка безопасности кросслинкинга склеры с рибофлавином/UVA в эксперименте. *Офтальмология*. 2019;16(1S):108–111. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2019-1S-108-111>

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

Конфликт интересов отсутствует



The Safety Assessment of the Ultraviolet Scleral Crosslinking with Riboflavin/UVA in Experiment

M.N. Astrelin, V.K. Surkova
Ufa Eye Research Institute
Pushkin str., 90, Ufa, 450008, Russia

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2019;16(1S):108-111

The purpose is to evaluate the safety of the scleral crosslinking with riboflavin/ultraviolet A (UVA) in an experiment *in vivo*. **Materials and methods.** The study was carried out on 34 Chinchilla rabbits (68 eyes). The right eyes were crosslinked (34 eyes), the left eyes were served as controls (34 eyes). Scleral crosslinking (SCXL) was performed with sclera saturation with a photosensitizer (0.1 % aqueous solution of riboflavin) for 20 minutes and its subsequent irradiation with ultraviolet A (wavelength of 370 ± 5 nm, irradiance — 3 mW/cm^2), total exposure time — 30 minutes (6 cycles of 5 minutes). The effect of the procedure on the anatomical and functional state of the eye layers was assessed with high-resolution optical coherent tomography (OCT) and electroretinography (ERG) before crosslinking, a day, 7 and 30 days after it. **Results.** OCT did not reveal any pathological changes after scleral crosslinking with riboflavin/UVA. The layers of the retina, choroid and sclera were clearly visualized. The performed morphometric analysis has showed the absence of statistically significant changes in the eye layers thickness after ultraviolet crosslinking. The amplitude-time characteristics and the shape of the electroretinogram of the experimental and control rabbits eyes were identical during all periods of observation, had a classic appearance. All waves of ERG were well expressed. It indicates a satisfactory functional state of the retinal neuroreceptor mechanisms. **Conclusion.** For ultraviolet crosslinking we used UVA with an irradiance of 3 mW/cm^2 for 30 minutes and a 0.1 % aqueous solution of riboflavin without dextran and did not reveal any side effects of the procedure. Thus, scleral crosslinking with these parameters is safe for the eye layers in an experiment *in vivo*.

Keywords: crosslinking, sclera, experiment, optical coherence tomography

For citation: Astrelin M.N., Surkova V.K. The Safety Assessment of the Ultraviolet Scleral Crosslinking with Riboflavin/UVA in Experiment. *Ophthalmology in Russia*. 2019;16(1S):108-111. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2019-1S-108-111>

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

There is no conflict of interests

АКТУАЛЬНОСТЬ

Близорукость (миопия) является одной из основных причин снижения зрения в мире. Распространенность данного заболевания значительно увеличилась за последние десятилетия. Особую тревогу вызывает прогрессирующая форма заболевания, зачастую приводящая к серьезным инвалидизирующим осложнениям [1, 2].

В настоящее время достаточно активно изучается возможность применения кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А (UVA) в качестве патогенетически направленного метода лечения прогрессирующей близорукости [3, 4]. Кросслинкинг — формирование перекрестных химических связей между крупными молекулами ткани, приводящее к увеличению ее упруго-прочностных свойств [5, 6]. С 2003 года данный метод успешно применяется для лечения эктазий роговицы [7–9].

В ряде экспериментальных исследований было показано повышение упруго-прочностных свойств склеры после кросслинкинга, замедление прогрессирования миопии [10]. Однако ученые наблюдали и серьезный побочный эффект процедуры в виде повреждения сетчатки при относительно высокой дозе облучения ультрафиолетом [11, 12]. Таким образом, актуальной является оценка безопасности кросслинкинга склеры с рибофлавином/UVA.

Цель — оценить безопасность кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А в эксперименте *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на 34 кроликах породы Шиншилла (68 глаз). Правые глаза были опытными (34 глаза), левые служили контролем (34 глаза).

Кросслинкинг склеры (SCXL) выполняли с насыщением склеры фотосенсибилизатором (0,1 % водный раствор рибофлавина) в течение 20 минут с последующим облучением ультрафиолетом А (длина волны 370 ± 5 нм, плотность мощности излучения — 3 мВт/см^2), суммарное время облучения — 30 минут (6 циклов по 5 минут).

Состояние оболочек глазного яблока оценивали с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) высокого разрешения DRI OCT Triton в режиме Macula Radial до проведения ультрафиолетового кросслинкинга, через сутки, 7 и 30 дней после него. Оценивали состояние и толщину сетчатки, хориоидеи и склеры.

С помощью электроретинографического исследования (ЭРГ) анализировали функциональное состояние сетчатки в интактном состоянии и через 1, 7 и 30 дней после манипуляции. Исследование проводили с помощью электрофизиологической установки «Нейро-ЭРГ» (Россия). Активный электрод располагали за нижним веком кролика, референтный и заземляющий — на ушах

M.N. Astrelin, V.K. Surkova

Contact information: Astrelin Mikhail N. astrelin87@yandex.ru

109

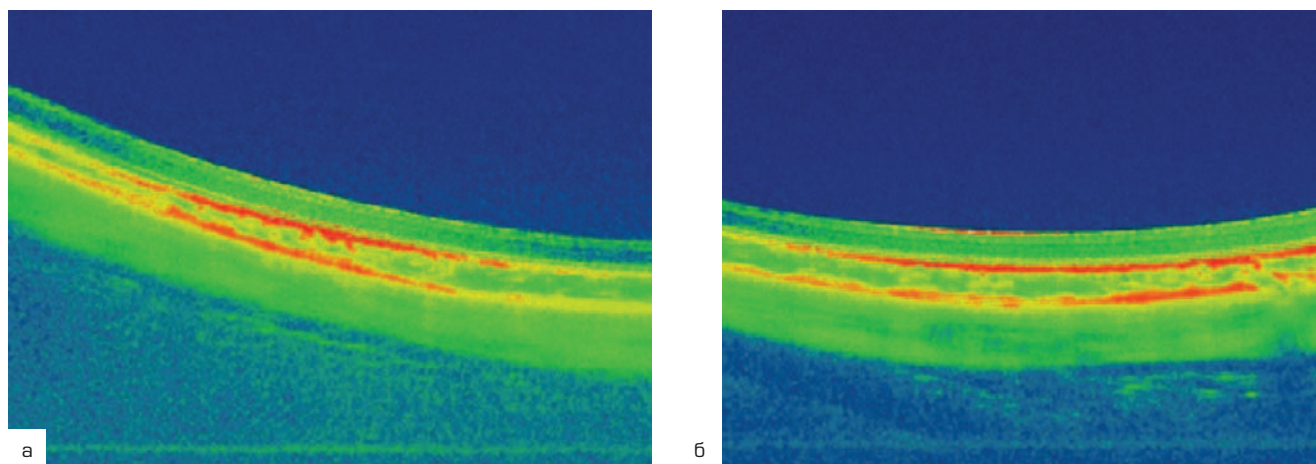


Рис. Оптическая когерентная томография оболочек глаз кролика. 1 сутки после проведения кросслиннинга склеры с рибофлавином/UVA: а) опыт; б) контроль

Fig. Optical coherence tomography of eye rabbits. 1 day after scleral crosslinking with riboflavin/UVA: a) crosslinked group; б) control group

лабораторного животного (пороговое сопротивление под электродами 5 кОм). В условиях темновой адаптации проводили световую стимуляцию с помощью мини-ганцфельд-сферы (частота стимуляции 0,5 Гц, полоса пропускания усилителя 2200 Гц). Исследовали палочковую, колбочковую и максимальную ЭРГ. Оценивали амплитуду, латентность и изменение конфигурации А- и Б-волн.

Для статистической обработки полученных данных использовали программное обеспечение Microsoft Excel 2010, а также Statistica 7.0. За достоверную значимость принимали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На снимках ОКТ не наблюдалось патологических изменений оболочек глаза после выполнения кросслиннинга склеры с рибофлавином/UVA. Оболочки глазного яблока (сетчатка, хориоидея и склера) четко визуализировались (рис. 1).

Результаты измерения толщины оболочек глаза оказались следующими: толщина сетчатки кроликов опытной группы (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$) до операции — $157,4 \pm 7,3$, через сутки после операции — $152,2 \pm 6,7$, через 7 дней после операции — $161,9 \pm 5,7$, через 30 дней после операции — $153,8 \pm 7,1$ мкм. В контрольной группе соответствующие показатели составляли $149,1 \pm 7,9$; $159,6 \pm 7,2$; $157,5 \pm 6,4$; $149,7 \pm 6,8$ мкм.

Толщина хориоидеи кроликов опытной группы (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$) до операции составляла $148,9 \pm 7,4$, через сутки после операции — $152,9 \pm 7,7$, через 7 дней после операции — $143,7 \pm 7,6$, через 30 дней после операции — $153,1 \pm 6,8$ мкм. В контрольной группе соответствующие показатели составляли $149,1 \pm 7,9$; $147,4 \pm 6,9$; $149,4 \pm 7,2$; $145,9 \pm 7,9$ мкм.

Толщина склеры кроликов опытной группы (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$) до операции была $282,1 \pm 8,9$, через сутки после операции — $278,9 \pm 9,7$, через 7 дней после операции — $291,6 \pm 10,2$, через 30 дней после операции — $286,6 \pm 9,4$ мкм. В контрольной группе соответствующие показатели составляли $293,4 \pm 9,3$; $287,2 \pm 9,6$; $288,4 \pm 9,1$; $292,4 \pm 10,1$ мкм.

Статистически достоверной разницы между исследованными группами выявлено не было ($p > 0,05$).

Таким образом, ультрафиолетовый кросслиннинг склеры по данным оптической когерентной томографии оболочек глазного яблока (сетчатки, хориоидеи и склеры) был безопасен. Волны ЭРГ экспериментального и контрольного глаз кроликов во все сроки наблюдения имели классический вид и были хорошо выражены, что свидетельствует об удовлетворительном функциональном состоянии нейрорецепторного аппарата сетчатки. Результаты измерения амплитуды волн представлены в таблицах 1–3.

Таблица 1. Палочковая ЭРГ кроликов ($M \pm m$)

Table 1. Rod ERG of the rabbits ($M \pm m$)

Группа Group	До операции Before surgery		1 сут. после операции 1 day after surgery		1 неделя после операции 1 week after surgery		1 месяц после операции 1 month after surgery	
	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)
SCXL	$39,4 \pm 3,3$	$71,2 \pm 2,9$	$41,1 \pm 3,7$	$72,4 \pm 3,8$	$40,8 \pm 2,9$	$68,7 \pm 2,6$	$38,3 \pm 2,6$	$72,4 \pm 3,6$
Контроль / Control	$42,1 \pm 2,8$	$69,4 \pm 3,1$	$38,6 \pm 3,9$	$73,8 \pm 2,7$	$37,9 \pm 3,6$	$73,2 \pm 2,9$	$39,9 \pm 3,8$	$71,4 \pm 3,5$

Таблица 2. Колбочковая ЭРГ кроликов ($M \pm m$)**Table 2.** Cone ERG of the rabbits ($M \pm m$)

Группа Group	До операции Before surgery		1 сут. после операции 1 day after surgery		1 неделя после операции 1 week after surgery		1 месяц после операции 1 month after surgery	
	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)
SCXL	20,6 \pm 3,6	63,5 \pm 3,7	21,1 \pm 2,7	62,7 \pm 2,9	22,8 \pm 3,5	61,7 \pm 3,2	19,8 \pm 3,6	64,3 \pm 3,8
Контроль / Control	18,8 \pm 3,7	64,1 \pm 2,4	20,4 \pm 3,5	65,4 \pm 3,2	23,1 \pm 3,1	60,2 \pm 3,3	19,3 \pm 3,3	65,8 \pm 2,8

Таблица 3. Максимальная ЭРГ кроликов ($M \pm m$)**Table 3.** Maximum ERG of the rabbits ($M \pm m$)

Группа Group	До операции Before surgery		1 сут. после операции 1 day after surgery		1 неделя после операции 1 week after surgery		1 месяц после операции 1 month after surgery	
	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)	А-волна (мкВ) A-wave (μV)	Б-волна (мкВ) B-wave (μV)
SCXL	36,2 \pm 3,7	117,9 \pm 3,9	38,8 \pm 2,7	116,4 \pm 3,6	34,7 \pm 2,8	119,7 \pm 3,8	35,3 \pm 3,6	118,3 \pm 2,9
Контроль / Control	38,3 \pm 3,4	115,4 \pm 2,8	35,6 \pm 3,6	117,3 \pm 3,9	33,9 \pm 2,6	115,8 \pm 3,1	39,1 \pm 2,7	116,3 \pm 3,7

Статистически достоверной разницы между исследованными группами выявлено не было ($p > 0,05$).

Таким образом, электрофизиологическое исследование не выявило каких-либо патологических изменений после проведения ультрафиолетового кросслинкинга склеры.

ВЫВОДЫ

При проведении кросслинкинга с использованием ультрафиолетового облучения с плотностью мощности 3 мВт/см² в течение 30 минут и 0,1 % водного раствора рибофлавина без содержания декстрана не было выявлено

побочных эффектов процедуры. Это свидетельствовало, что при данных параметрах кросслинкинга склеры с рибофлавином/UVA является безопасным для оболочек глаза в эксперименте *in vivo*. Дальнейшие исследования и определение оптимального протокола позволят адаптировать методику ультрафиолетового кросслинкинга склеры для применения в клинике.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Астрелин М.Н. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста;
Суркова В.К. — концепция и дизайн исследования, научное редактирование.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- McCarty C.A., Taylor H.R. Myopia and Vision 2020. *Am. J. Ophthalmol.* 2000;129(4):525–527.
- Bikbov M., Kazakbaeva G., Jonas J.B., Fayzrakhmanov R. Prevalence and associated factors of myopia in Russia. The Ufa Eye and Medical Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2017;58(8):2373.
- Wollensak G., Spoerl E. Collagen crosslinking of human and porcine sclera. *J. Cataract Refract. Surg.* 2004; 30(3): 689–695.
- Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л., Астрелин М.Н. Кросслиндинг склеры с рибофлавином и ультрафиолетом А (UVA). Обзор литературы. *Офтальмология.* 2015;12(4):4–8. [Bikbov M.M., Surkova V.K., Usubov E.L., Astrelin M.N. Scleral crosslinking with riboflavin and ultraviolet A (UVA). A review. *Ophthalmology in Russia = Oftalmologiya.* 2015;12(4):4–8 (In Russ.). DOI: 10.18008/1816-5095-2015-4-4-8]
- Бикбов М.М., Бикбова Г.М. *Эктазии роговицы.* М.: Офтальмология; 2011. [Bikbov M.M., Bikbova G.M. *Corneal ectasia.* M.: Ophthalmology; 2011 (In Russ.).]
- Bikbova G., Khalimov A., Kazakbaeva G., Bikbov M. Molecular mechanisms of corneal collagen crosslinking. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2018;59(9):522.
- Бикбов М.М., Бикбова Г.М., Хабибуллин А.Ф. Кросслиндинг роговичного коллагена в лечении кератоконуса. *Вестник офтальмологии.* 2011;127(5):21–25. [Bikbov M.M., Bikbova G.M., Habiboullin A.F. Corneal collagen cross-linking in keratoconus management. *Annals of ophthalmology = Vestnik oftalmologii.* 2011;127(5):21–25 (In Russ.).]
- Bikbova G., Bikbov M. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(1):e30–e34. DOI: 10.1111/aos.12235
- Bikbova G., Bikbov M. Standard corneal collagen crosslinking versus transepithelial iontophoresis-assisted corneal crosslinking, 24 months follow-up: randomized control trial. *Acta Ophthalmol.* 2016;94(7):e600–e606. DOI: 10.1111/aos
- Wollensak G., Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit sclera after collagen crosslinking using riboflavin and ultraviolet A (UVA). *Acta Ophthalmol.* 2009;87(2):193–198. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2008.01229.x
- Wollensak G., Iomdina E., Dittert D.D., Salamatina O., Stoltenburg G. Cross-linking of scleral collagen in the rabbit using riboflavin and UVA. *Acta Ophthalmol Scand.* 2005;83(4):477–482.
- Zhang Y., Zou C., Liu L., Cao L., Xia X., Li Z., Hu M., Yu H., Mu G. Effect of irradiation time on riboflavin-ultraviolet-A collagen crosslinking in rabbit sclera. *J. Cataract Refract. Surg.* 2013; 39(8): 1184–1189. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.02.055

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»
Астрелин Михаил Николаевич
научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика
ул. Пушкина, 90, Уфа, 450008, Россия

ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»
Суркова Валентина Константиновна
доктор медицинских наук профессор, ведущий научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика
ул. Пушкина, 90, Уфа, 450008, Россия

ABOUT THE AUTHORS

Ufa Eye Research Institute
Astrelin Mikhail N.
scientific researcher of the cornea and lens surgery Department
Pushkin str., 90, Ufa, 450008, Russia

Ufa Eye Research Institute
Surkova Valentina K.
MD, professor, leading scientific researcher of the cornea and lens surgery Department,
Pushkin str., 90, Ufa, 450008, Russia