

DOI 10.22363/2313-0245-2021-25-2-96-105

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ  
RESEARCH ARTICLE

## Оценка толщины роговицы *ex vivo* и *in vivo* при инстилляциях растворов фотосенсибилизатора в разных модификациях УФ кросслинкинга роговицы

**М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, В.К. Суркова, Г.М. Казакбаева\***Уфимский НИИ глазных болезней, г. Уфа, Российская Федерация  
\*gyulli.kazakbaeva@gmail.com

**Аннотация.** Цель. Выявить особенности действия и провести оценку эффективности растворов фотосенсибилизатора в эксперименте в разных модификациях стандартного кросслинкинга роговицы. *Материалы и методы.* Эксперименты выполнены на 32 энуклеированных глазах свиней *ex vivo* и на 12 кроликах (24 глаза) *in vivo*, разделенных на 4 группы в зависимости от вида инстиллируемого раствора фотосенсибилизатора: Декстралинк, Риболинк, Гиполинк и «Рибофлавин». Исследования насыщения роговицы производились двумя модификациями стандартного ультрафиолетового кросслинкинга роговицы: в первом случае инстилляции раствора фотосенсибилизатора выполняли в течение всей процедуры кросслинкинга (30 мин — насыщение и 30 мин — ультрафиолетовое облучение); во втором случае закапывания продолжались только в течение первых 30 мин, а в процессе ультрафиолетового облучения (30 мин) прекорнеальная пленка рибофлавина удалялась и инстилляции растворов не производились. *Результаты и обсуждение.* При инстилляциях растворов фотосенсибилизатора в течение 60 минут установлены следующие изменения: для Декстралинка характерно снижение толщины роговицы — на 24 % *ex vivo* и *in vivo* — на 21 %, Гиполинк, напротив, вызывал ее увеличение на 9 % и 23 % соответственно. Применение Риболинка и Рибофлавина практически не изменяло линейные параметры роговицы в течение всего срока наблюдения. Результаты 2-й серии исследований показали, что эффекты растворов, оказываемые на роговицу при их инстилляциях 30 минут, в целом сохранялись в течение всего срока наблюдения до 60 минут. В группе, где использовали растворы Декстралинка и Гиполинк, выявлена незначительная тенденция к восстановлению исходных параметров роговицы. *Выводы.* Безопасное и эффективное выполнение стандартного кросслинкинга роговицы возможно на основе рационального подхода к выполнению этапов насыщения стромы растворами фотосенсибилизатора в зависимости от исходного состояния роговицы: средство Декстралинка рекомендовано при толщине более 450 мкм, Риболинк — 400—450 мкм, Гиполинк — от 350 до 400 мкм. Прекращение инстилляций растворов на насыщенную рибофлавином роговицу в период ультрафиолетового облучения целесообразно проводить под интраоперационным контролем ее толщины. При выполнении стандартной техники кросслинкинга, где этап УФ облучения роговицы сопровождается инстилляциями раствора фотосенсибилизатора, необходимо учитывать наличие прекорнеальной пленки, способной поглощать часть энергии излучения в слоях стромы. Особенность данной техники кросслинкинга можно рассматривать в качестве потенциального способа защиты интраокулярных тканей от избыточного воздействия ультрафиолетового излучения, в частности при сшивании тонких роговиц.

**Ключевые слова:** кросслиндинг роговицы, кератоконус, Рибофлавин, роговица, толщина роговицы

**Вклад авторов.** М.М. Бикбов — концепция исследования, написание текста; А.Р. Халимов — дизайн исследования, написание текста; В.К. Суркова — анализ полученных данных, написание текста; Г.М. Казакбаева — сбор и обработка

© Бикбов М.М., Халимов А.Р., Суркова В.К., Казакбаева Г.М., 2021

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

материалов, анализ полученных данных, написание текста.

**Информация о конфликте интересов.** Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

Поступила 11.11.2020. Принята 11.12.2020.

**Для цитирования:** Бикбов М.М., Халимов А.Р., Суркова В.К., Казакбаева Г.М. Оценка толщины роговицы *ex vivo* и *in vivo* при инстилляциях растворов фотосенсибилизатора в разных модификациях УФ кросслинkinга роговицы // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2021. Т. 25. № 2. С. 96—105. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-96-105

## Estimation of corneal thickness *ex vivo* and *in vivo* at instillation of photosensitizer solutions in different modifications of UV corneal crosslinking

M.M. Bikbov, A.R. Khalimov, V.K. Surkova, G.M. Kazakbaeva\*

Ufa Eye Research Institute, Ufa, Russia

\*Corresponding author: gyulli.kazakbaeva@gmail.com

**Annotation.** *Objectives:* to evaluate the effectiveness of photosensitizer solutions in the experiment in different modifications of standard UV corneal crosslinking. *Materials and Methods.* Experiments were performed on 32 enucleated porcine eyes *ex vivo* and 12 rabbits (24 eyes) *in vivo*, divided into 4 groups depending on instillations of the photosensitizer solutions: «Dextralink», «Ribolink», «Hypolink» and «Riboflavin». Evaluation of corneal saturation was performed using two modifications of standard UV CXL: in the first case, instillation of the photosensitizer solution was performed during the entire crosslinking procedure (30 min — saturation and 30 min — ultraviolet irradiation); in the second case, instillations lasted only for the first 30 minutes, the precorneal riboflavin film was removed, and instillation of solution was not performed. *Results and Discussion.* Instillation of photosensitizer solutions within 60 minutes showed that Dextralink significantly reduced the thickness of the cornea by about 24 % *ex vivo* and 21 % *in vivo*, while Hypolink, on the contrary, caused its increase by 9 % *ex vivo* and 23 % *in vivo*, respectively. The use of Ribolink and Riboflavin did not change the linear parameters of the cornea during the entire follow-up period. The results of the 2nd series of studies showed that effects of solutions on the cornea during their instillation for 30 minutes were generally preserved during the entire observation period up to 60 minutes. In the group where Dextralink and Hypolink solutions were used, there was a slight tendency to normalization of the initial parameters of the cornea. *Conclusion.* Safe and effective implementation of UV crosslinking of the cornea is possible on the basis of a rational approach to the performing the stages of stroma saturation with photosensitizer solutions, depending on the initial state of the cornea: Dextralink is recommended for a thickness of more than 450  $\mu\text{m}$ , Ribolink — at 400—450  $\mu\text{m}$ , Hypolink — from 350 to 400  $\mu\text{m}$ . Halting of instillations on the saturated stroma during UV irradiation is advisable to be accompanied by intraoperative control of its thickness. When performing a standard crosslinking technique, where instillations of photosensitizer accompany the stage of UV irradiation of the cornea, it is necessary to take into account the presence of a precorneal film that can absorb some of the radiation energy. The peculiarity of this crosslinking technique can be considered as a potential way to protect intraocular tissues from excessive exposure to UV radiation.

**Keywords:** corneal crosslinking, riboflavin, keratoconus, cornea, corneal thickness

**Author contributions.** Mukharram M. Bikbov — the concept of the research, writing manuscript; Azat R. Khalimov — study design, writing manuscript; Valentina K. Surkova — analysis of data, writing manuscript; Gyulli M. Kazakbaeva — data collection and processing, analysis of data, writing manuscript.

**Conflicts of interest statement.** The authors have no a financial interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests.

Received 11.11.2020. Accepted 11.12.2020.

**For citation:** Bikbov MM, Khalimov AR, Surkova VK, Kazakbaeva GM. Estimation of corneal thickness ex vivo and in vivo at instillation of photosensitizer solutions in different modifications of UV corneal crosslinking. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25(2):96—105. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-96-105

## Введение

Эффективность кросслинкинга обеспечивается наличием фотосенсибилизатора (рибофлавин) в роговице, который под воздействием ультрафиолетового (УФ) излучения (370 нм) способствует образованию триплетного рибофлавина и ряда активных форм кислорода, необходимых для формирования перекрестных связей в коллагеновом волокне [1—3]. В клинической практике широко применяется протектор роговицы Декстралинк, содержащий 0,1 % рибофлавина мононуклеотид с 20 % полимером декстран 500 kDa (Россия, рег. удостоверение № ФСР 2010/09071), который не только обеспечивает необходимое содержание фотосенсибилизатора (ФС) в строме, но и формирует рибофлавиновую прекорнеальную пленку [3]. Стабильность последней имеет значение для качественного насыщения стромы ФС и, соответственно, эффективного выполнения процедуры кросслинкинга роговицы (CXL) [4].

Состояние линейных параметров роговицы в соответствии с протоколом CXL является ключевым показателем точного дозирования ультрафиолета в слоях роговой оболочки. Внедрение селективных фотосенсибилизаторов, позволяющих не только насыщать строму рибофлавином, но обеспечивать возможность выполнения CXL на роговицах в различном диапазоне ее толщины, повысит критерии безопасности и эффективности процедуры.

Большой практический и научный интерес представляют исследования динамики изменений толщины роговицы на протяжении стандартной процедуры кросслинкинга (30 минут — насыщение стромы ФС и 30 минут — УФ облучение). В настоящее время офтальмологи используют две модификации стандартного CXL, отличающиеся тем, что одна техника предполагает инстилляцию раствора ФС в процессе УФ облучения, другая — выполняется без закапывания ФС при воздействии ультрафиолета. Соответственно, в первом случае защитная прекорнеальная пленка

рибофлавина является дополнительным барьером для УФ излучения, в последнем она отсутствует [5, 6].

Настоящие экспериментальные исследования проведены с целью выявления особенностей влияния растворов фотосенсибилизатора на толщину роговицы.

## Материалы методы

Исследование одобрено комиссией Этического комитета Уфимского НИИ глазных болезней. Экспериментальное исследование было проведено на 32 энуклеированных свиных глазах (не позднее 2 ч после изъятия) и на 12 кроликах (24 глаза) породы Шиншилла, которые были разделены на 4 группы в зависимости от вида, используемого для инстилляций ФС, которые были разработаны в Уфимском НИИ глазных болезней:

— Декстралинк — 0,1 % рибофлавина мононуклеотид с 20 % декстраном (рег. удостоверение № ФСР 2010/09071) [7];

— Риболинк — 0,1 % рибофлавина мононуклеотид с 1,0 % гидроксипропилметилцеллюлозой (ГМПЦ) [8];

— Гиполинк — 0,1 % рибофлавина мононуклеотид на гипотонической основе [9];

— Рибофлавин — 0,1 % рибофлавина мононуклеотид на изотонической буферной основе.

Все эксперименты проводились в соответствии с нормативными документами, регламентирующими гуманное обращение с животными и порядок проведения лабораторных исследований.

Измерения линейных параметров свиных роговиц ex vivo и роговиц глаз кроликов in vivo при использовании ФС производились по 2 методикам: в 1-й серии экспериментов — инстилляцией исследуемых средств выполняли в течение 60 минут наблюдений,

во 2-й — только 30 минут, при этом во избежание пересыхания поверхности роговицы в интервале от 30 до 60 минут закапывали физраствор из расчета 1 капля / 4 минуты.

Модель этапа насыщения стромы ФС при проведении процедуры стандартного УФ кросслинkingа с деэпителизацией здоровой роговицы кроликов производилась *in vivo* при анестезиологическом пособии препаратами «Золетил» 15 мг/кг (Valdepharm, Франция), «Ксилазин» 20 мг/кг («Ветфарм», Беларусь) внутримышечно и инстилляциях глазных капель 0,4 % оксипрокаином («Инокаин», Индия). Деэпителизацию (Epi-Off) проводили микрохирургическим шпателем на участке роговицы, отмеченном метчиком, диаметром 9 мм с использованием операционного микроскопа Carl Zeiss (Германия). В послеоперационном периоде двукратно в течение 3-х дней закапывали антибактериальные средства (левофлоксацин 0,5 %, «Белмедпрепараты», Беларусь).

Оценку толщины роговицы проводили в течение 60 минут (с интервалом 5 минут). Измерения свиной роговицы выполняли в центральной зоне с помощью микрометра Digital linear gauge EG-100 (Япония). Для определения прижизненной толщины роговицы

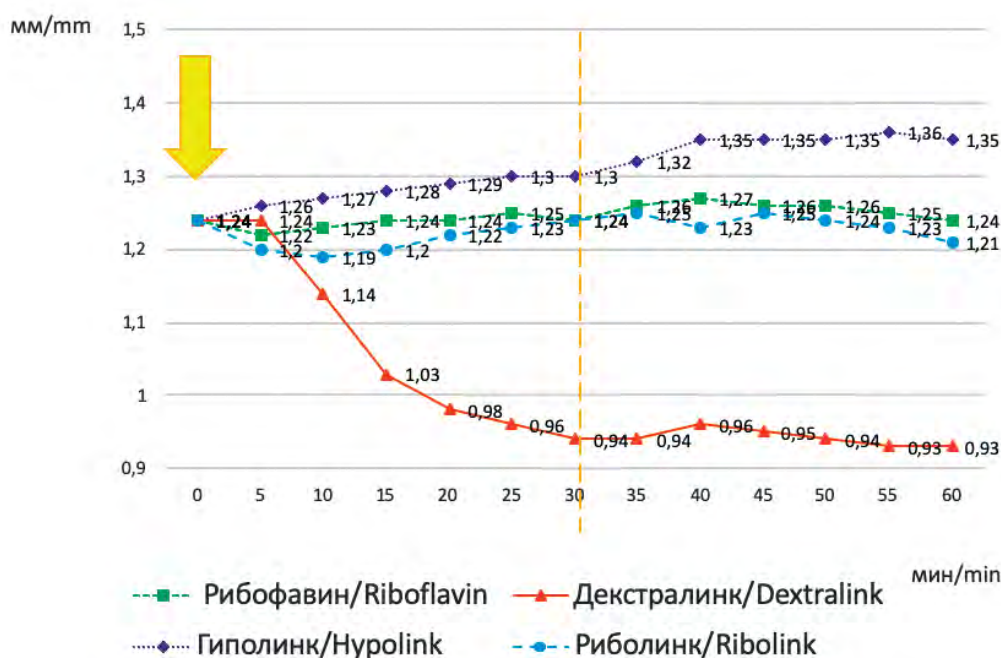
кроликов в режиме реального времени применяли оптическую когерентную томографию («Vizante OCT», Carl Zeiss, Германия). Регистрация значений толщины роговицы кроликов осуществлялась в 3-х точках: в центре роговицы и в 3 мм от центра.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программ Microsoft Excel 2010 и Statistika 6.0.

## Результаты и обсуждение

Измерение толщины свиных роговиц *ex vivo* без эпителия до начала инстилляций позволило определить их среднее значение —  $1,25 \pm 0,05$  мм.

При закапываниях раствора Декстралинк, начиная с 10 минуты наблюдений, выявлено статистически достоверное снижение толщины роговицы на 8 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). К 30—60-й минуте эксперимента значения исследуемого показателя были в пределах от  $0,94 \pm 0,07$  до  $0,93 \pm 0,09$  мм, что на 24 % ( $p < 0,05$ ) ниже исходного уровня.



**Рис. 1.** Динамика изменений толщины свиных роговиц *ex vivo* при инстилляциях растворов фотосенсибилизатора (Рибофлавин, Декстралинк, Гиполинк, Риболинк) для УФ кросслинkingа в течение 60 минут. По оси абсцисс — период наблюдений (мин), по оси ординат — толщина роговицы (мм). Стрелкой отмечен этап деэпителизации (Epi-Off)

**Fig. 1.** Dynamics of changes in the thickness of porcine corneas *ex vivo* during instillation of photosensitizer solutions (Riboflavin, Dextralink, Hypolink, Ribolink) for UV crosslinking for 60 minutes. The abscissa shows the observation period (minutes), y-axis is the thickness of the cornea (mm). The arrow marks the stage of de-epithelization (Epi-Off)



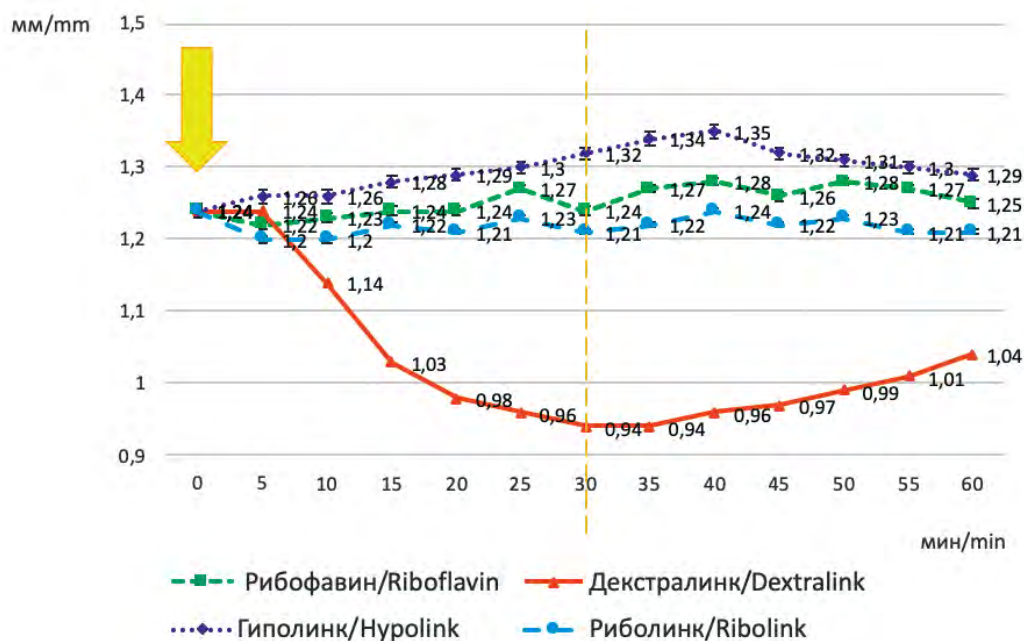
Нами выявлено однотипное действие исследуемых растворов Риболинк и Рибофлавин, которые на протяжении 60 минут не влияли на изменение исходной толщины роговицы. Следует отметить, что для обеспечения полноценной диффузии раствора ФС в строму частота инстилляций изотонического Рибофлавина и полимерсодержащего средства Риболинк была различной: соответственно, 1 капля в минуту против 1 капли в 2 минуты.

При использовании средства Гиполинк регистрировали невыраженный рост толщины свиной роговицы *ex vivo*, начиная с 15 минуты эксперимента — примерно на 3 % по сравнению с исходными

данными. К 40-й минуте наблюдения отмечали наибольшее повышение толщины роговицы — на 9 %.

Во 2-й серии экспериментов *ex vivo* (без инстилляций ФС с 30 по 60 мин) динамика толщины свиной роговицы в группах, где применяли растворы изотонического Рибофлавина и Риболинк, не претерпела видимых изменений (рис. 2).

При инстилляциях раствора Декстралинк к 30-й минуте отмечали снижение толщины роговицы на 24 % ( $p < 0,05$ ), которое сохранялось до 35-й минуты наблюдений с последующей слабо выраженной тенденцией к нормализации показателя (рис. 2).



**Рис. 2.** Динамика изменений толщины свиной роговицы *ex vivo* при инстиляции растворов фотосенсибилизатора (Рибофлавин, Декстралинк, Гиполинк, Риболинк) для УФ кросслинкинга в течение 30 минут. По оси абсцисс — период наблюдений (мин), по оси ординат — толщина роговицы (мм). Стрелкой отмечен этап деэпителизации (Epi-Off)

**Fig. 2.** Dynamics of changes in pig corneal thickness *ex vivo* during instillation of photosensitizer solutions (Riboflavin, Dextralink, Hypolink, Ribolink) for UV cross-linking within 30 minutes. The abscissa shows the observation period (minutes), y-axis is the thickness of the cornea (mm). The arrow marks the stage of de-epithelization (Epi-Off)

В целом, дегидратирующее действие декстрана, входящего в состав раствора Декстралинк, отмечалось в период от 15 до 60 минуты, несмотря на прекращение его инстилляций.

Применение раствора Гиполинк *ex vivo* способствовало увеличению толщины роговицы на 8 % до 40-й минуты эксперимента. В последующий

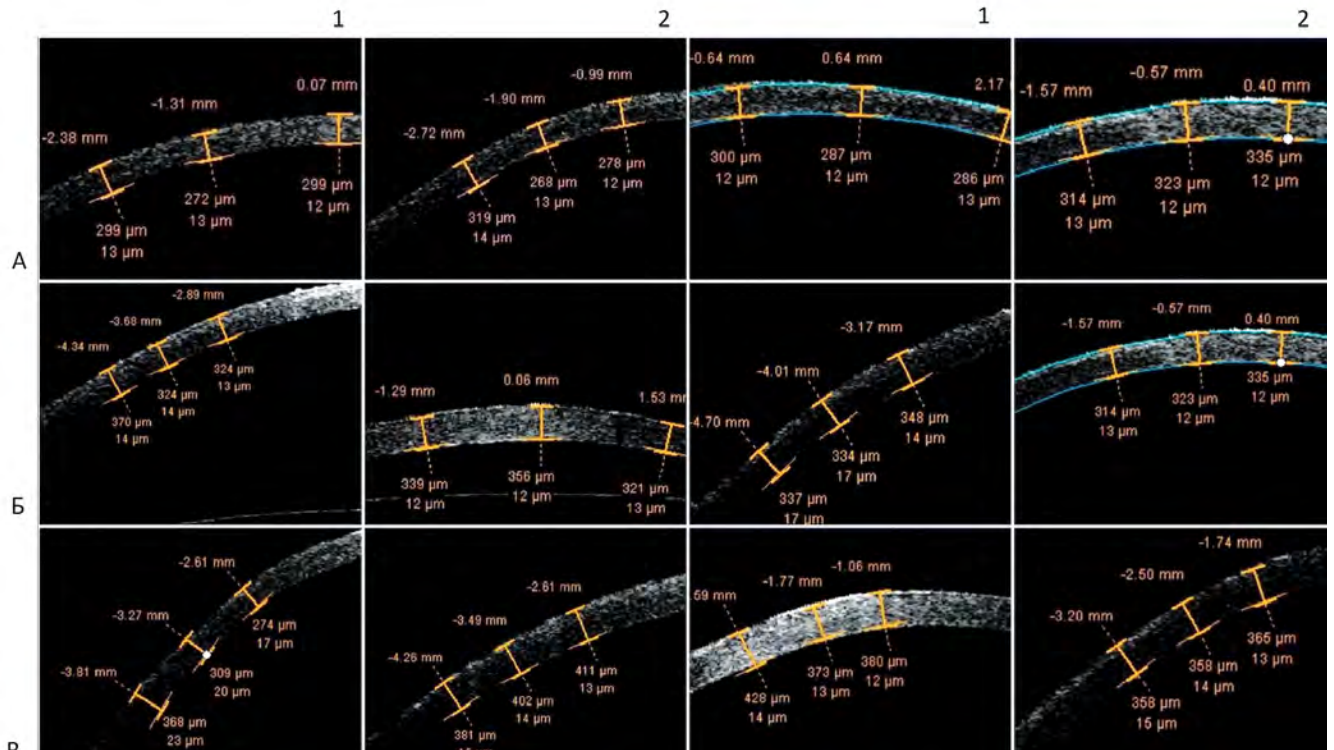
временной промежуток отмечали снижение толщины роговицы практически до исходных значений.

Проведенные исследования *in vivo* методом оптической когерентной томографии (ОКТ) показали следующее. При воспроизводстве модели стандартного УФ кросслинкинга с деэпителизацией отмечали снижение толщины роговицы в среднем

на 38—52 мкм. На рисунке 3 показана динамика изменений толщины роговицы кроликов в течение 60 минут инстилляций ФС.

Как и в предыдущих экспериментах *ex vivo*, данные ОКТ *in vivo* показали (рис. 4), что после на-

сыщения стромы роговицы раствором Декстралинк толщина деэпителизированной роговицы кролика к 30 минутам уменьшилась до  $269 \pm 18$  мкм (на 21 %). Такое состояние роговицы сохранялось до 60-й минуты эксперимента.



**Рис. 3.** Оптическая когерентная томография роговицы кроликов при инстиляции растворов фотосенсибилизатора: А – Декстралинк, Б – Риболинк, В – Гиполинк. Длительность инстилляций фотосенсибилизатора: 1—30 минут; 2—60 минут

**Fig. 3.** Optical coherence tomography of the cornea of rabbits during instillation of photosensitizer solutions: a-Dextralink, B-Ribolink, C – Hypolink.

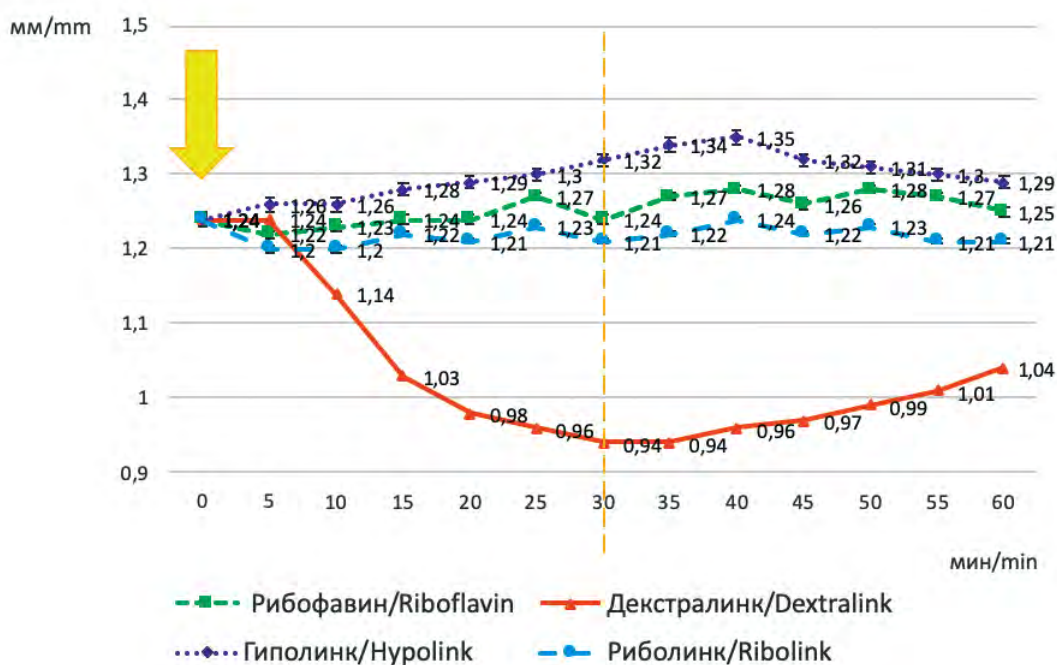
The duration of instillation of the photosensitizer: 1—30 minutes; 2—60 minutes

Продолжающиеся в течение 60 минут наблюдений инстилляций растворов Риболинк и изоосмотического Рибофлавина практически не изменяли значения толщины роговицы, были, соответственно, в пределах  $346 \pm 24$  мкм и  $349 \pm 21$  мкм (рис. 3). При этом Риболинк по сравнению с изоосмотическим раствором Рибофлавина создавал более устойчивую прорнеальную полимерную пленку.

Закапывание средства Гиполинк на деэпителизованную поверхность роговицы кролика

способствовало повышению ее толщины за счет гидратации стромы, достигая максимума ( $420 \pm 12$  мкм) через 40 минут наблюдений (рис. 3). Прирост толщины роговицы составил 23 % от исходного состояния.

Во второй серии проведенных нами экспериментов *in vivo* (без инстилляций ФС на 30—60 мин) также показано выраженное дегидратирующее действие раствора Декстралинк.



**Рис. 4.** Динамика изменений толщины роговиц кроликов *in vivo* в центральной зоне при инстилляции растворов фотосенсибилизатора (Рибофлавин, Декстралинк, Гиполинк, Риболинк) для УФ кросслинкинга в течение 60 минут. По оси абсцисс – период наблюдений (мин), по оси ординат – толщина роговицы (мкм). Стрелкой отмечен этап деэпителизации (Epi-Off)

**Fig. 4.** Dynamics of changes in the corneal thickness of rabbits *in vivo* in the Central zone during instillation of photosensitizer solutions (Riboflavin, Dextralink, Hypolink, Ribolink) for UV crosslinking for 60 minutes. The abscissa shows the observation period (min), y-axis – thickness of cornea ( $\mu\text{m}$ ). The arrow marks the stage of de-epithelization (Epi-Off)

Результатом характерного обезвоживания стромы явилось снижение толщины роговицы кроликов на 21 % — до  $267 \pm 17$  мкм. Важно отметить, что прекращение инстилляций препарата с 30 минуты способствовало снижению его дегидратационного эффекта, что выражалось в незначительном (8 %) восстановлении дооперационной толщины роговицы с 40-й минуты эксперимента (рис. 4).

Результаты испытаний растворов Риболинк и изоосмотического Рибофлавина показали их одинаковое действие на строму в течение 60 минут наблюдений. При этом роговица сохраняла свои исходные параметры, как при инстилляциях продолжительностью 60 минут (рис. 5), так и при закапываниях в течение 30 минут.

Эффект применения раствора Гиполинк был связан с развитием характерного отека роговицы. Однако незначительное изменение динамики толщины

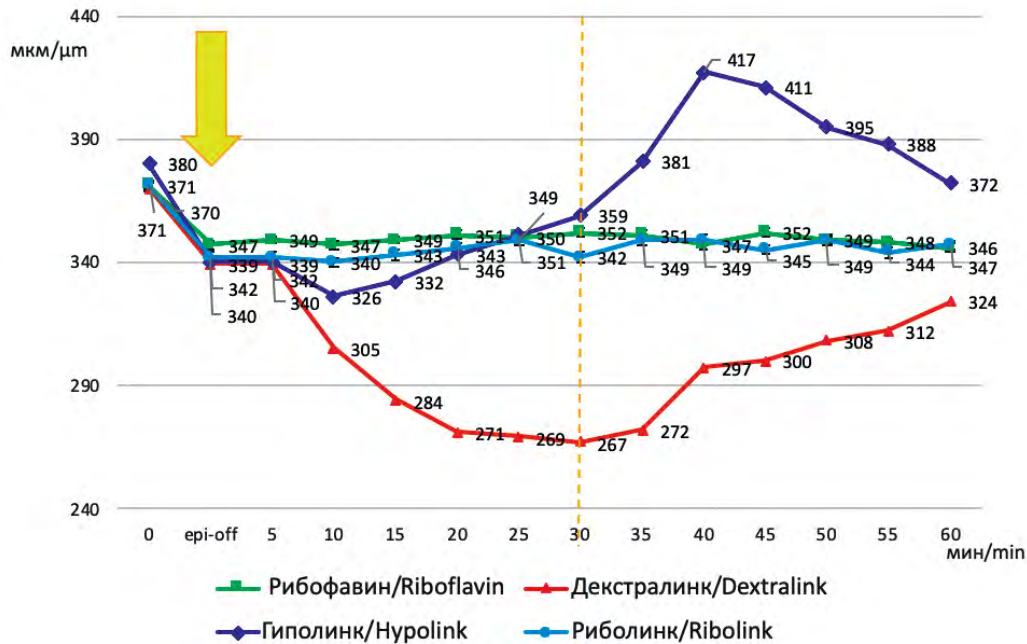
роговицы к 50—60 минуте наблюдений в условиях прекращения инстилляций ФС можно охарактеризовать как невыраженную тенденцию к нормализации дооперационной толщины роговицы, что, несомненно, нужно учитывать в условиях клинического использования гипоосмотических растворов (рис. 5).

Проведенные нами исследования динамики состояния роговицы при инстилляциях растворов ФС в течение 60 минут показали, что применение средства Декстралинк способствовало достоверному снижению корнеальной толщины примерно на 24 % *ex vivo* и на 21 % *in vivo*, Гиполинк — напротив, вызывал ее увеличение на 9 % *ex vivo* и на 23 % *in vivo*, а Риболинк и Рибофлавин практически не изменяли линейные параметры роговой оболочки в течение всего срока наблюдения.

При этом следует отметить, что продолжающиеся закапывания растворов в период с 30 по 60 ми-

нуты, которые соответствуют этапу УФ облучения, создают на поверхности роговицы прекорнеальную

пленку, способную дополнительно поглощать энергию УФ излучения.



**Рис. 5.** Динамика изменений толщины роговиц кроликов *in vivo* в центральной зоне при инстилляции растворов фотосенсибилизатора (Рибофлавин, Декстралинк, Гиполинк, Риболинк) для УФ кросслинкинга в течение 30 минут. По оси абсцисс — период наблюдений (мин), по оси ординат — толщина роговицы (мкм). Стрелкой отмечен этап деэпителизации (Epi-Off)

**Fig. 5.** Dynamics of changes in the corneal thickness of rabbits *in vivo* in the Central zone during instillation of photosensitizer solutions (Riboflavin, Dextralink, Hypolink, Ribolink) for UV crosslinking for 30 minutes. The abscissa shows the observation period (min), y-axis — thickness of cornea (μm). The arrow marks the stage of de-epithelization (Epi-Off)

Результаты второй серии экспериментов *ex vivo* и *in vivo* при 30-минутных инстилляциях растворов Декстралинк и Гиполинк для УФ кросслинкинга свидетельствуют о том, что их действие на роговицу в целом сохранялось с 30 по 60 минуты наблюдений, хотя и с незначительной тенденцией к восстановлению исходных значений показателя.

Препараты с декстраном способны оказывать дезинтоксикационное действие. Выявлен их антигипоксический эффект, что особенно важно в условиях дефицита кислорода в тканях роговицы в процессе ее УФ облучения при CXL [9—11]. Однако при

использовании средств с рибофлавин-декстраном (Декстралинк) следует учитывать уменьшение влажностенности стромы, вызванное дегидратирующим влиянием полимера. Выраженное противоотечное действие последнего сопровождается снижением толщины роговицы, что особенно важно при выполнении стандартного CXL с деэпителизацией [12—14]. Таким образом, целесообразно ограничить использование раствора Декстралинк у пациентов с толщиной роговицы менее 450 мкм с тем, чтобы не допустить проникновения цитотоксичной дозы ультрафиолета до эндотелиального слоя.



Раствор Риболинк обеспечивает достаточное проникновение ФС в строму и поддерживает стабильное состояние толщины роговицы в течение всей процедуры СХЛ (60 минут). Это дает возможность применения средства Риболинк у пациентов с толщиной роговицы от 400 мкм. Раствор Рибофлавина по своему влиянию на корнеальную толщину при инстилляциях идентичен Риболинку.

Незначительное количество ГПМЦ, введенное в состав средства Гиполинк, обеспечивает стабилизацию пленки на поверхности роговицы, способствуя компенсации негативного воздействия УФ излучения на внутриглазные структуры. Вероятно, не столь существенный гипоосмотический медикаментозный отек стромы в эксперименте *ex vivo* связан с тем, что роговица глаза животного быстро отекает после энуклеации, т.е. еще до начала инстилляций и биометрических измерений. В исследованиях *in vivo* раствор Гиполинк способствует более выраженному увеличению толщины роговицы за счет ее естественного набухания. Следует отметить, что прижизненные исследования в отличие от экспериментов *ex vivo* позволяют дать более объективную оценку изменений толщины роговицы с учетом сохраняющейся физиологичной глазной гидродинамики. Отек стромы и увеличение корнеальной толщины, вызванные гипоосмотическим эффектом раствора Гиполинк, делают возможным выполнение УФ кросслинкинга у пациентов с экстремально тонкой роговицей — от 350 до 400 мкм.

### Выводы

Безопасное и эффективное выполнение УФ кросслинкинга роговицы возможно на основе рационального подхода к выполнению этапов насыщения стромы растворами ФС в зависимости от исходного состояния роговицы: средство Декстралинк рекомендовано при толщине более 450 мкм, Риболинк — 400—450 мкм. Так называемый эффект «искусственного отека» роговицы позволяет предложить раствор Гиполинк для применения в клинической практике у пациентов с роговицей от 350 до 400 мкм.

Прекращение инстилляций растворов ФС на насыщенную рибофлавином строму в период УФ облучения целесообразно сопровождать интраоперационным контролем толщины роговицы, в особенности при

использовании средств Декстралинк и Гиполинк, значимо влияющих на биометрические параметры роговой оболочки.

Динамика изменений корнеальной толщины при выполнении СХЛ с растворами Гиполинк или Декстралинк в условиях прекращения их инстилляций с 30 по 60 минуту характеризуется тенденцией к частичному восстановлению дооперационных параметров роговицы.

При выполнении стандартной техники кросслинкинга, где этап УФ облучения роговицы сопровождается инстилляциями раствора фотосенсибилизатора, необходимо учитывать наличие прекорнеальной пленки, способной поглощать часть энергии излучения в слоях стромы, что можно рассматривать в качестве потенциального способа защиты интраокулярных тканей от избыточного воздействия УФ излучения, в частности, при разработке оригинального клинического протокола сшивания тонких роговиц.

### Библиографический список

1. Wollensak G., Spoerl E., Wilsch M. Keratocyte Apoptosis after Corneal Collagen Crosslinking Using Riboflavin UVA Treatment // *Cornea*. 2004. Vol. 23. P. 43-49. doi: 10.1097/00003226-200401000-00008.
2. Arnal E., Peris-Martinez C., Menezo J.L. et al. Oxidative stress in keratoconus? // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2011. V. 52. N 12. P. 8592-8597. doi: 10.1167/iov.11-7732
3. Kohlhaas M., Spoerl E., Schilde T. et al. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light // *J. Cataract. Refract. Surg*. 2006. V. 32. P. 279-283. doi: 10.1016/j.jcrs.2005.12.092
4. Халимов А.Р. Прекорнеальная пленка рибофлавина в системе ультрафиолетового кросслинкинга роговицы. *Ex vivo* исследование. Медицинский вестник Башкортостана. 2017. Т. 12. № 1. С. 65-67.
5. Халимов А.Р. Молекулярные и клеточные механизмы ультрафиолетового сшивания роговицы: дис. ... д-ра биол. наук. Уфа. 2019. 275 с.
6. Бикбов М.М., Халимов А.Р., Бикбова Г.М. Офтальмологическое средство для кросслинкинга. Патент РФ изобретение № 2412707/ <https://findpatent.ru/patent/241/2412707.html>. 27.02.2011. Дата обращения: 21.10.2009.
7. Бикбов М.М., Халимов А.Р., Бикбова Г.М. и др. Офтальмологическое средство для ультрафиолетового кросслинкинга роговицы (Риболинк). Патент РФ изобретение № 2646452 / 07.11.2016. <https://findpatent.ru/patent/264/2646452.html>. Дата обращения: 12.03.2012.
8. Бикбов М.М., Халимов А.Р., Бикбова Г.М. и др. Гипоосмотическое офтальмологическое средство для ультрафиолетового кросслинкинга тонких роговиц Патент РФ на изобретение № 2631604 от 07.11.2016. <https://findpatent.ru/patent/263/2631604>. Дата обращения: 12.03.2012.

9. Kymionis G.D., Kymionis M.A., Grentzelos Plaka A.D. Correlation of the Corneal Collagen Cross-Linking Demarcation Line Using Confocal Microscopy and Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Keratoconic Patients // *Am. J. Ophthalmol.* 2014. Vol. 157. N 1. P. 110-115. doi: 10.1016/j.ajo.2013.09.010
10. Халимов А.Р., Шевчук Н.Е., Суркова В.К. Декстран и его значение в офтальмологическом растворе рибофлавина для ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена // *Сб. научн. труд.* 2019. Т. 1. С. 201-205.
11. Бикбов М.М., Шевчук Н.Е., Халимов А.Р. Динамика уровня рибофлавина во влаге передней камеры глаза экспериментальных животных при стандартном насыщении стромы растворами для УФ кросслинкинга роговицы // *Вестник офтальмологии*. 2016. Т. 132. N 6. С. 29-35.
12. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Эктазии роговицы (патогенез, патоморфология, клиника, диагностика, лечение). М.: «Офтальмология», 2011. 164 с.
13. Bueno J.M., Gualda E.J., Giakoumaki A. et al. Multiphoton microscopy of ex vivo corneas after collagen cross-linking // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011. V. 52. N 8. P. 5325-5331. doi:10.1167/iovs.11-7184
14. Kling S., Remon L., Perez-Escudero A., et al. Corneal biomechanical changes after collagen cross-linking from porcine eye inflation experiments. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010. V. 51. N 8. P. 3961-3968. doi:10.1167/iovs.09-4536
15. Mencucci R., Marini M., Paladini I. Effects of riboflavin / UVA corneal cross-linking on keratocytes and collagen fibres in human cornea // *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2010. Vol. 38. N 1. P. 49-56. doi:10.1111/j.1442-9071.2010.02207.x
5. Khalimov AR. Molecular and cellular mechanisms of UV corneal crosslinking. PhD Thesis. Ufa. 2019. 275 p. (In Russ).
6. Bikbov MM, Khalimov AR, Bikbova GM. Ophthalmological agent for cross-linking. Patent RUS №2412707 / 27.02.2011. <https://findpatent.ru/patent/241/2412707.html> (In Russ).
7. Bikbov MM, Halimov AR, Bikbova GM, Kazakbaev RA, Usubov EL, Kazakbaeva GM, Halimova LI. Ophthalmological agent for UV corneal crosslinking (Ribolink). Patent RUS №2646452 / 07.11.2016. <https://findpatent.ru/patent/264/2646452.html> (In Russ).
8. Bikbov MM, Khalimov AR, Bikbova GM, Usubov EL, Kazakbaeva GM, Halimova LI, Kazakbaev RA. Hypoosmotic ophthalmological agent for ultraviolet crosslinking of thin corneas. Patent RUS № 2631604 dated 07.11.2016. <https://findpatent.ru/patent/263/2631604.html> (In Russ).
9. Kymionis GD, Kymionis MA, Grentzelos Plaka AD. Correlation of the Corneal Collagen Cross-Linking Demarcation Line Using Confocal Microscopy and Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Keratoconic Patients. *Am. J. Ophthalmol.* 2014;157(1):110-115. doi:10.1016/j.ajo.2013.09.010
10. Khalimov AR, Shevchuk NE, Surkova VK. Dextran and its significance in the ophthalmological solution of Riboflavin for ultraviolet crosslinking of corneal collagen. *St. P. nauchnii trudy.* 2019;1: 201-205. (In Russ).
11. Bikbov MM, Shevchuk NE, Khalimov AR. Dynamics of Riboflavin level in the moisture of the anterior chamber of the eye of experimental animals at standard saturation of the stroma with solutions for UV corneal crosslinking. *Vestnik ophthalmologii.* 2016;132(6):29-35. (In Russ).
12. Bikbov MM, Bikbova GM. *Corneal Ectasia (pathogenesis, pathomorphology, clinics, diagnosis, treatment)*. Moscow. Ophthalmology. 2011. 168 p. (In Russ).
13. Bueno JM, Gualda EJ, Giakoumaki A. et al. Multiphoton microscopy of ex vivo corneas after collagen cross-linking. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011;52(8):5325-5331. doi:10.1167/iovs.11-7184
14. Kling S, Remon L, Perez-Escudero A, et al. Corneal biomechanical changes after collagen cross-linking from porcine eye inflation experiments. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010;51(8):3961-3968. doi:10.1167/iovs.09-4536
15. Mencucci R, Marini M, Paladini I. Effects of riboflavin / UVA corneal cross-linking on keratocytes and collagen fibres in human cornea. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2010;38(1):49-56. doi:10.1111/j.1442-9071.2010.02207.x

## References

1. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M. Keratocyte Apoptosis after Corneal Collagen Crosslinking Using Riboflavin UVA Treatment. *Cornea*. 2004;23: 43-49. doi:10.1097/00003226-200401000-00008.
2. Arnal E, Peris-Martinez C, Menezo JL et al. Oxidative stress in keratoconus? *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2011;52(12):8592-8597. doi:10.1167/iovs.11-7732
3. Kohlhaas M, Spoerl E, Schilde T. et al. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2006; 32: 279-283. doi:10.1016/j.jcrs.2005.12.092
4. Khalimov AR. Precorneal film of Riboflavin in the corneal UV crosslinking system. Ex vivo research. *Medicinskii vestnik Bashkortostana*. 2017;2(1): 65-67. (In Russ).

*Ответственный за переписку:* Казакбаева Гюлли Мухаррамовна — научный сотрудник отделения медицинской и офтальмологической эпидемиологии ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», Российская Федерация, 450008, г. Уфа, ул. Пушкина, д. 90; E-mail: [gyulli.kazakbaeva@gmail.com](mailto:gyulli.kazakbaeva@gmail.com)

Бикбов М.М. SPIN: 4951-4615; ORCID: 0000-0002-0569-1264  
Халимов А.Р. SPIN: 7507-4450; ORCID: 0000-0001-7470-73330  
Суркова В.К. SPIN: 5244-1241; ORCID: 0000-0003-4964-263X  
Казакбаева Г.М. SPIN: 6256-1989; ORCID: 0000-0002-0569-1264

*Corresponding author:* Gyulli M. Kazakbaeva — research scientist, Ufa Eye Research Institute, 450008, Pushkin str., 90, Ufa, Russia. E-mail: [gyulli.kazakbaeva@gmail.com](mailto:gyulli.kazakbaeva@gmail.com)

Bikbov M. M. ORCID: 0000-0002-0569-1264  
Khalimov A. R. ORCID: 0000-0001-7470-73330  
Surkova V. K. ORCID: 0000-0003-4964-263X  
Kazakbaeva G.M. ORCID: 0000-0002-0569-1264