

Экспериментальное обоснование кросслинкинга склеры

М.М. Бикбов, М.Н. Астрелин

ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ»

РЕФЕРАТ

Цель. Обосновать эффективность и безопасность кросслинкинга склеры (SCXL) под воздействием рибофлавина и ультрафиолетового излучения.

Материал и методы. Исследование проводили на кадаверных свиных глазах и глазах кроликов.

Результаты. В эксперименте доказано, что кросслиндинг с рибофлавином/ультрафиолетом А приводит к увеличению биомеханической прочности склеральной ткани, изменяя ее структуру и приводя к увеличению плотности упаковки коллагеновых волокон и увеличению диаметра коллагеновых фибрилл, что подтверждает образование дополнительных перекрестных связей между макромолекулами склеры. Установлено отсутствие каких-либо патологических изменений волокон фиброзной оболочки глаза.

Определена проницаемость склеральной ткани для ультрафиолетового излучения диапазона А. На основе полученных данных предложена формула для расчета порогового значения интенсивности ультрафиолетового облучения при проведении процедуры SCXL.

Методами световой микроскопии, электроретинографии и оптической когерентной томографии выявлено, что выполнение SCXL с ри-

бофлавином/ультрафиолетом А при исследованных параметрах безопасно для структур глаза (роговицы, сетчатки и зрительного нерва). Разработана щадящая технология фотополимеризации склеры с использованием устройства «УФалинк С», преимуществом которой является возможность проводить ультрафиолетовое облучение в труднодоступных участках глазного яблока. При этом доказано эффективное повышение биомеханических прочностных характеристик склеральной ткани и продемонстрировано отсутствие повреждающего воздействия на структуры глаза.

Заключение. Рекомендуется клиническое исследование процедуры кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А с предложенными параметрами: мощностью 3 мВт/см², временем облучения 30 минут и предварительным насыщением склеры 0,1%-м водным раствором рибофлавина в течение 20 минут, которые в экспериментах показали свою эффективность и безопасность. При проведении процедуры рекомендуется использовать фотосенсибилизатор рибофлавин на водной основе, без добавления декстрана, который приводит к дегидратации склеры и повышению ее проницаемости для ультрафиолетового света, что увеличивает риск повреждения внутренних оболочек глаза.

Ключевые слова: кросслиндинг склеры, ультрафиолет А, рибофлавин, эксперимент, миопия. ■

Точка зрения. Восток – Запад. 2021;1:56–61.

ABSTRACT

Experimental substantiation of scleral crosslinking

M.M. Bikbov, M.N. Astrelin

Ufa Eye Research Institute, Ufa

Purpose. To substantiate the efficacy and safety of scleral collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet radiation.

Material and methods. The study was conducted on cadaver porcine eyes and rabbit eyes.

Results. It has been experimentally proven that crosslinking with riboflavin / ultraviolet A leads to an increase in the biomechanical strength of the scleral tissue, changing its structure and leading to an increase in the packing density of collagen fibers and an increase in the diameter of collagen fibrils, which confirms the formation of additional crosslinks between scleral macromolecules. The absence of any pathological changes in the fibers of the fibrous membrane of the eye was established.

The permeability of scleral tissue for ultraviolet radiation of the A range was determined. Based on the data obtained, a formula was proposed for calculating the threshold value of the intensity of ultraviolet radiation during the SCXL procedure.

Using the methods of light microscopy, electroretinography and optical coherence tomography, it was revealed that SCXL with riboflavin / ultraviolet A under the studied parameters is safe for the structures of the eye (cornea, retina and optic nerve). A gentle technology for

photopolymerization of the sclera with the use of the «UFalink S» device has been developed, the advantage of which is the ability to carry out ultraviolet irradiation in hard-to-reach areas of the eyeball. At the same time, an effective increase in the biomechanical strength characteristics of the scleral tissue was proved and the absence of a damaging effect on the structures of the eye was demonstrated.

Conclusion. A clinical study of the scleral crosslinking procedure with riboflavin / ultraviolet A with the proposed parameters: irradiance of 3 mW / cm², irradiation time 30 minutes and preliminary saturation of the sclera with 0.1% aqueous solution of riboflavin for 20 minutes, which in experiments have shown their effectiveness and safety, is recommended. During the procedure, it is recommended to use a water-based photosensitizer riboflavin, without the addition of dextran, which leads to dehydration of the sclera and an increase in its permeability to ultraviolet light, which increases the risk of damage to the inner layers of the eye.

Key words: scleral crosslinking, ultraviolet A, riboflavin, experiment, myopia. ■

Point of View. East – West. 2021;1:56–61.

Лечение прогрессирующей близорукости до сих пор остается нерешенной проблемой офтальмологии. Склеропластические операции, направленные на предотвращение прогрессирования миопии, заключаются в укреплении склеры биологическими или синтетическими трансплантатами. Однако склеропластика не всегда эффективна, и возможны ее серьезные осложнения. Кроме того, при ней происходит предупреждение растяжения склеры за счет создания внешнего «каркаса», при отсутствии изменения структуры самой склеральной ткани. При прогрессирующей же близорукости одним из ключевых звеньев патогенеза является снижение прочности склеры из-за нарушений ее структуры, снижения количества внутри- и межмолекулярных связей [1]. В связи с этим более патогенетически обоснованным методом лечения заболевания выглядит кросслиндинг склеры – SCXL [2-4].

Кросслиндинг (перекрестное сшивание) – образование дополнительных химических связей между макромолекулами, приводящее к увеличению прочности ткани. Уже более 10 лет данный метод успешно применяется для лечения кератэктазий [5-8]. Высказываются предположения о перспективности использования кросслинкинга (перекрестного сшивания) склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А (UVA) при прогрессирующей близорукости.

В ряде экспериментальных работ было показано положительное влияние кросслинкинга на биомеханическую прочность склеральной ткани, замедление прогрессирования смоделированной близорукости [4, 9-11]. Однако лишь единичные работы посвящены гистологическим изменениям, происходящим в склере и других структурах глазного яблока под воздействием ультрафиолетового облучения в присутствии фотосенсибилизатора [12, 13]. Недостаточно изучена возможность использования рибофлавина на основе декстрана при проведении процедуры. Отсутствует четкая система, обосновывающая выбор параметров ультрафиолетового облучения. Кроме того, все исследования проводились с применением аппаратов,

предназначенных для проведения фотохимического кросслинкинга роговицы, а не склеры. Их применение в клинике для ультрафиолетовой обработки экваториальных и заднеполярных областей фиброзной оболочки крайне затруднительно или совсем невозможно.

В связи с этим актуальной является комплексная экспериментальная разработка метода SCXL с рибофлавином/UVA.

ЦЕЛЬ

Обосновать эффективность и безопасность перекрестного сшивания коллагена склеры под воздействием рибофлавина и ультрафиолетового излучения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проводились на кадаверных свиных глазах, а также глазах кроликов *in vivo* и *ex vivo*.

Влияние SCXL с рибофлавином и UVA на биомеханические свойства склеральной ткани исследовано на 95 кадаверных свиных глазах. На каждом глазу в сагиттальном направлении, начиная от зрительного нерва, выкраивали по 2 параллельных склеральных лоскута размером 4x10 мм. Размеры их определяли с помощью цифрового штангенциркуля. Один из образцов склеры каждого глазного яблока подвергался процедуре кросслинкинга (опытная группа), в которой насыщали 0,1%-м водным раствором рибофлавина-мононуклеотида путем инстилляций в течение 20 минут с последующим облучением ультрафиолетом А с длиной волны 370 ± 5 нм и мощностью 3 мВт/см^2 – в течение 30 минут с дополнительной инстилляцией раствора фотосенсибилизатора каждые 5 минут. Второй парный образец оставался интактным (контрольная группа). Полученные склеральные лоскуты растягивали вдоль продольной оси на разрывной установке до их полного разрыва. При этом фиксировали величину растяжения образца и затрачиваемую на это силу. Сравнение биомеханической прочности образцов склеры

производили по показателям предела прочности и модуля Юнга.

Также было исследовано влияние SCXL с рибофлавином и UVA на структуру склеральной ткани. Для этого были использованы 15 кадаверных свиных глаз, из которых в сагиттальном направлении, начиная в 2 мм от лимба, выкраивали по 2 параллельных склеральных лоскута прямоугольной формы, размером 4x10 мм. Один из образцов склеры каждого глазного яблока подвергался процедуре SCXL (опытная группа), второй парный образец оставался интактным (контрольная группа). Затем склеральные лоскуты фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, после проводки через спирты образцы заливали в парафин и готовили гистологические срезы, которые окрашивали по Ван Гизону. Визуальный анализ препаратов выполняли на световом микроскопе Axiostar Plus (Carl Zeiss) при различных увеличениях.

Для оценки влияния SCXL с рибофлавином и УФ-А на ультраструктуру склеральной ткани были использованы также 11 кадаверных свиных глаз, из которых выкраивали по 2 параллельных склеральных лоскута прямоугольной формы, размером 4x10 мм. Один из образцов подвергался процедуре кросслинкинга (опытная группа), второй парный образец оставался интактным (контроль). Образцы склеры соответствующим образом готовили. Сравнительный анализ диаметра коллагеновых фибрилл осуществляли с использованием фотографических изображений (увеличение $\times 10000$) при помощи программного обеспечения Olympus iTEM для анализа электронограмм [14].

Расчет показателя поглощения ультрафиолетового излучения группы А склеральной тканью проводили на 60 кадаверных свиных глазах (60 образцов склеральной ткани) и 30 свежезекульированных глазах кроликов породы Шиншилла (30 образцов склеральной ткани). Выкраивали склеральный лоскут прямоугольной формы, размером 12x15 мм. Толщину склерального образца измеряли с помощью цифрового штангенциркуля. Половину полученных образцов насыщали 0,1%-м водным раствором ри-

бофлавина мононуклеотида (30 образцов свиной склеры, 15 образцов склеральной ткани кроликов), половину – оставляли интактными (30 образцов свиной склеры, 15 образцов склеральной ткани кроликов). В качестве источника UVA использовали светодиод (Roithner Laser Technik, UVLED 370-10E, Австрия), закрепленный в горизонтальной плоскости. Мощность ультрафиолетового излучения измеряли с помощью УФ-радиометра, по показанию прибора определяли проходящую через него мощность УФ-излучения [15].

По формуле $k = -\frac{\ln(\frac{I}{I_0})}{t}$ вычисляли показатель поглощения ультрафиолета А склерой.

Сравнение влияния фотосенсибилизаторов (ФС) на водной и декстрановой основах на проницаемость склеральной ткани для ультрафиолетового излучения группы А выполняли на 60 кадаверных свиных глазах, которые были разделены на 2 группы (в одной использовали 0,1%-й водный раствор рибофлавина мононуклеотида, во второй – 0,1%-й раствор рибофлавина мононуклеотида на 20%-й декстрановой основе). Выкраивали склеральный лоскут прямоугольной формы, размером 12x15 мм, лоскуты насыщали ФС в течение 20 минут. В качестве источника УФ-А использовали светодиод (Roithner Laser Technik, UVLED 370-10E, Австрия), закрепленный в горизонтальной плоскости. Мощность ультрафиолетового излучения измеряли с помощью УФ-радиометра, по показанию прибора определяли проходящую через него мощность УФ-излучения. Измерение проводили в течение 30 минут.

Оценку сохранности структур глаза после проведения кросслинкинга склеры с рибофлавином и UVA проводили на 34 кроликах (68 глаз) *in vivo*. На правых глазах выполняли процедуру SCXL с рибофлавином/ультрафиолетом А, левые – служили контролем. В послеоперационном периоде проводили местную антибактериальную и противовоспалительную терапию в течение 1 недели.

Офтальмобиомикроскопическое исследование выполняли с помощью фотошелевой лампы на 1, 7, 14 и 30 сутки после операции. Оцени-

вали состояние конъюнктивы, склеры, роговицы, влагу и глубину передней камеры, радужку, хрусталик, стекловидное тело; проводили осмотр глазного дна при помощи бесконтактных асферических высокодиоптрийных линз 78 и 90 D.

С помощью оптической когерентной томографии сетчатки (ОКТ) до начала эксперимента, а также на 1, 7 и 30 сутки после операции оценивали состояние слоев сетчатки, хориоидеи и склеры, а также проводили измерение их толщины.

Оценку функционального состояния нейрорецепторных элементов сетчатки проводили на 15 кроликах (30 глаз) путем регистрации электрорегинограммы (ЭРГ – палочковой, колбочковой и максимальной) до операции в интактном состоянии и через 1, 7 и 30 дней после операции. Данные, полученные после хирургического вмешательства, в ходе эксперимента сравнивались с дооперационной нормой и дополнительным контролем (левый интактный глаз).

Использовали также метод световой микроскопии. Для этого 15 кроликов выводили из эксперимента через 1 сутки, 1 неделю и 1 месяц после операции (по 5 животных на каждый срок). Глаза энуклеировали и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Выкраивали облученный участок склеры с прилежащими внутренними оболочками, роговицей и зрительным нервом, проводили его через спирты, заливали в парафин, готовили гистологические срезы, окрашивая их гематоксилин-эозином [16–19].

С применением устройства «УФалинк С» SCXL с рибофлавином/ультрафиолетом А провели на 66 кроликах (132 глаза), причем на правом глазу выполняли процедуру кросслинкинга, а левый служил контролем. Кросслинкинг склеры проводили под внутримышечной анестезией препаратом ксилазин и местной анестезией 0,4%-м инокаином. После установки блефаростата в верхне-внутреннем секторе выполняли паралимбальный разрез конъюнктивы и теноновой оболочки длиной около 1 см для подхода к склеральной ткани. Через полученный разрез тупым путем формировали карман между склерой и теноновой

оболочкой, в который инстиллировали 0,1%-й водный раствор рибофлавина мононуклеотида шприцем с канюлей. Таким образом насыщали склеру ФС в течение 20 минут.

Облучение фиброзной оболочки ультрафиолетом А выполняли с помощью устройства «УФалинк С» (длина волны – 370 нм, мощность излучения – 3 мВт/см²), разработанного в Уфимском НИИ глазных болезней специально для проведения кросслинкинга склеры (патент на полезную модель №144673 от 28.07.2014 г.): излучатель аппарата вводили в сформированный карман и обеспечивали воздействие UVA на склеру в течение 30 минут (6 циклов по 5 минут).

В промежутках между циклами дополнительно инстиллировали ФС в течение 20-30 секунд. После завершения облучения на конъюнктиву накладывали 1-2 узловых шва 8/0. В послеоперационном периоде проводили антибактериальную и противовоспалительную терапию в течение недели.

Животных выводили из эксперимента через 1 сутки, 1 неделю и 1 месяц после операции. Глаза энуклеировали и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Выкраивали облученный участок склеры с прилежащими внутренними оболочками и частью косой экстраокулярной мышцы, попадавшей в зону облучения, а также зрительный нерв. Морфологические исследования данных структур проводили для выявления прямого или опосредованного повреждающего воздействия кросслинкинга. В контрольной группе выкраивали соответствующий участок. Полученные образцы проводили через спирты и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином. Визуальный анализ препаратов и фотоснимки проводили с помощью светового микроскопа Leica DME при различных увеличениях.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биомеханические показатели склеральных лоскутов, подвергшихся процедуре ультрафиолето-

Таблица 1

Биомеханические показатели опытных и контрольных склеральных образцов

Показатель	SCXL (Рибофлавин + UVA)	Только рибофлавин	Только UVA	Контроль
Предел прочности, МПа	15,14±2,46* (177%)	8,46±3,68 (99%)	9,13±3,26 (107%)	8,57±2,34 (100%)
Модуль Юнга, МПа	30,83±2,69* (163%)	18,36±2,96 (97%)	18,94±2,57 (100,4%)	18,86±2,72 (100%)

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

вого кросслинкинга, а также контрольных групп представлены в *таблице 1*.

Как видно из *таблицы 1*, в результате SCXL с рибофлавином/УФ-А наблюдалось статистически достоверное увеличение прочностных характеристик склеральной ткани (предел прочности увеличился на 77%, модуль Юнга – на 63%).

При световой микроскопии на фотоснимках гистологических препаратов склеры признаков патологических изменений ее структуры в результате кросслинкинга не наблюдалось. Проведенный морфометрический анализ фотоснимков гистологических препаратов позволил судить о влиянии SCXL на плотность упаковки склеральной ткани. В результате его проведения наблюдали статистически достоверное увеличение плотности упаковки коллагеновых волокон в среднем на 8% (с 57,97% в контроле до 66,63% после SCXL) и уменьшение площади межучточного пространства в среднем на 5% (с 14,24% до 8,96% соответственно).

Электронно-микроскопические исследования в обеих группах показали наличие регулярно чередующихся зон зазора фибрилл (располагающихся параллельно друг другу), формирующих коллагеновые волокна. Исследование проводилось для оценки сохранности жизнеспособности фиброцитов склеры. Было показано, что склероциты сохраняют свою структурную целостность без повреждения стенки; визуализировались сохраненные ядра, органоиды, цитоплазма. Проведенный анализ электронограмм показал, что в результате SCXL с рибофлавином/UVA происходит достоверное увеличение диаметра коллагеновых фибрилл в среднем на 12%, плотности упаковки – на 15%.

Таким образом, результаты свидетельствовали об относительно высокой устойчивости склеральной ткани к повреждающему воздействию ультрафиолетового излучения. Увеличение диаметра коллагеновых фибрилл и более плотное расположение волокон склеры в результате кросслинкинга связаны с образованием дополнительных перекрестных связей.

Показатель поглощения ультрафиолета А кадаверной свиной склерой составил в среднем $4,91 \pm 0,43 \text{ мм}^{-1}$, склерой кроликов – $11,70 \pm 1,27 \text{ мм}^{-1}$. Показатель поглощения ультрафиолета А кадаверной свиной склерой, насыщенной рибофлавином, составил в среднем $9,04 \pm 0,83 \text{ мм}^{-1}$, склерой кроликов, насыщенной фотосенсибилизатором – $16,2 \pm 0,72 \text{ мм}^{-1}$.

Полученные показатели использовались для расчета пороговых параметров ультрафиолетового облучения при проведении процедуры SCXL.

Средняя толщина склеральных лоскутов (I) в первой группе составила $0,72 \pm 0,08 \text{ мм}$, мощность падающего на них UVA – $3,003 \pm 0,007 \text{ мВт/см}^2$ (W_0). Мощность прошедшего через склеральные образцы UVA (W_1) составила $0,0 \text{ мВт/см}^2$ – склеральные образцы, пропитанные водным раствором рибофлавина полностью задерживали падающий на них ультрафиолет. Через 5, 10, 15 и 30 минут ($W_5, W_{10}, W_{15}, W_{30}$) наблюдаемая картина не менялась – UVA полностью задерживался склерой.

Лоскуты 2-й группы существенно не отличались по своей толщине от первой группы ($l = 0,74 \pm 0,07 \text{ мм}$). Их облучали ультрафиолетом аналогичной мощности ($3,002 \pm 0,005 \text{ мВт/см}^2$). Склеральные образцы, пропитанные декстран-содержащим ФС, не полностью задержива-

ли ультрафиолет – мощность прошедшего через них UVA составила $0,011 \pm 0,004 \text{ мВт/см}^2$. С течением времени количество ультрафиолета, проходящего через лоскуты второй группы, постоянно увеличивалось: через 5 минут (W_5) мощность UVA превысила первоначальную (W_1) более чем в 3 раза, через 10 минут (W_{10}) – в 7 раз, через 15 минут (W_{15}) – в 9 раз. Через 30 минут мощность ультрафиолета, прошедшего через склеру, достигла $0,132 \pm 0,005 \text{ мВт/см}^2$ (W_{30}), что более чем в 10 раз превышает первоначальное значение. Относительно толстые образцы кадаверной свиной склеры, насыщенные ФС на основе декстрана, не полностью задерживали UVA «стандартной» мощности 3 мВт/см^2 . Более того, с течением времени воздействия происходило увеличение мощности ультрафиолета, проходящего через склеру. Как известно, непрозрачность склеральной ткани прежде всего определяется содержанием в ней воды. Склера просветлевает, если этот показатель падает ниже 40%. В эксперименте происходила дегидратация склеры декстраном, соответственно, повышалась ее прозрачность и проницаемость для UVA.

В противоположность этому, склеральные лоскуты, насыщенные водным раствором рибофлавина, полностью задерживали падающий на них ультрафиолетовый свет. При этом данный эффект сохранялся в течение всего периода УФ-облучения (до 30 минут). Наблюдаемое явление вполне логично и объясняется тем, что в данном случае рибофлавин служит не только ФС, но одновременно выступает и в роли фотопротектора.

Таким образом, склеральная ткань достаточной толщины, насыщенная 0,1%-м водным раствором рибофла-

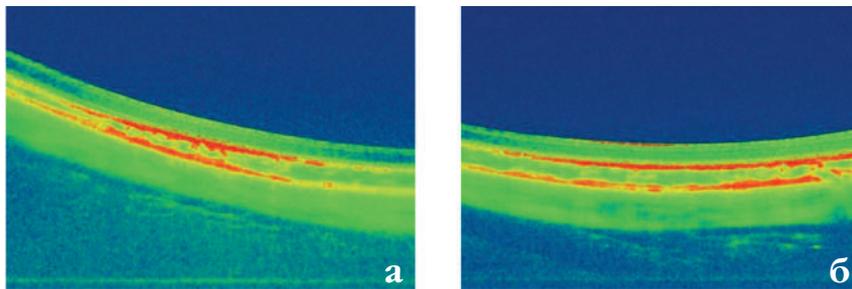


Рис. Оптическая когерентная томография кроликов. первые сутки после проведения процедуры SCXL. А) опыт; Б) контроль

вина, может полностью задерживать падающий на нее UVA мощностью 3 мВт/см², в связи с чем исключается цитотоксическое воздействие ультрафиолетового излучения на внутренние оболочки глаза. Другими словами, процедура SCXL с рибофлавином/ультрафиолетом А может быть безопасной с точки зрения воздействия на сетчатку при достаточной толщине склеры и использовании ФС рибофлавина на водной основе.

Был произведен расчет пороговых параметров ультрафиолетового облучения при проведении процедуры SCXL с рибофлавином и UVA в зависимости от толщины склеры. Зная показатель поглощения ультрафиолета А склерой и толщину склеральной ткани, можно рассчитать мощность ультрафиолетового излучения, необходимую для проведения SCXL в этой зоне, исключая его проникновение в глубже лежащие слои глаза, а следовательно, и их повреждение.

Повреждающий порог излучения для сетчатки составляет 0,31 Дж/см². Подставив данное значение в преобразованную формулу закона Бугера-Ламберта-Бера, мы можем вывести уравнение, позволяющее рассчитывать пороговые параметры процедуры облучения склеры ультрафиолетом А:

$$I = I_0 e^{-kt};$$

$$\frac{E}{t} = \frac{E_0}{t} e^{-kt};$$

$$E_0 = E e^{kt};$$

$$E_0 = 0,31 \frac{\text{Дж}}{\text{см}^2} * e^{16,2 \text{ мм}^{-1} * l \text{ мм}}$$

где E_0 – пороговая доза облучения склеры, Дж/см²; E – повреждающий порог излучения для сетчатки, Дж/см²; t – время облучения склеры ультрафиолетом, с; e – основание натурального логарифма; k – показатель поглощения ультрафиолета А склерой, мм⁻¹; l – толщина склеры, мм.

При проведении биомикроскопического исследования через 1 сутки после процедуры SCXL у кроликов наблюдались незначительные блефароспазм и инъекция конъюнктивы оперированного глаза. Нарушения прозрачности оптических сред не выявлялось. Воспалительные явления постепенно стихали и полностью исчезали через несколько дней после операции.

При офтальмоскопии экспериментальных животных во все сроки наблюдения хорошо просматривались как поверхность зрительного нерва, так и волокна медуллярной лучистости вокруг него. Определялась близкая к равномерной пигментация сетчатки.

Не было выявлено каких-либо патологических изменений после проведения SCXL и методом ОКТ, на ее снимках четко визуализировались слои сетчатки, хориоида и склера (рис.). Измерения толщины оболочек глаз после проведенной статистической обработки полученных результатов не выявили статистически значимой разницы между исследованными группами ($p > 0,05$).

Амплитудно-временные характеристики и форма ЭРГ экспериментального (правого) и контрольного (левого) глаз кроликов были идентичными во все сроки наблюдения, имели классический вид. Все волны ЭРГ хорошо выражены, что свидетельствует об удовлетворительном функциональном состоянии ретинальных нейрорецепторных механизмов. Проведенная статистическая обработка полученных результатов не выявила статистически значимой разницы между исследованными группами ($p > 0,05$).

Полученные биомеханические показатели склеральных лоскутов представлены в таблице 2. Таким образом, в результате SCXL с рибофлавином/УФ-А наблюдалось статистически достоверное увеличение прочностных характеристик склеральной ткани (предел прочности увеличился на 71%, модуль Юнга – на 64%). В группах сравнения (только насыщение склеры ФС или только ультрафиолетовое облучение) статистически значимых изменений прочности склеры выявлено не было.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

При этом по данным световой микроскопии в сетчатке и зрительном нерве пролеченных глаз не было выявлено патологических изменений ни в один из сроков наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе эксперимента доказано, что кросслинкинг с рибофлавином/ультрафиолетом А приводит к увеличению биомеханической прочности склеральной ткани, изменяя ее структуру и приводя к увеличению плотности упаковки коллагеновых волокон, уменьшению площади межуглового пространства и увеличению диаметра коллагеновых фибрилл. Это подтверждает образование дополнительных перекрестных связей между макромолекулами склеры. Установлено отсутствие каких-либо патологических изменений волокон фиброзной оболочки глаза.

Определена проникаемость склеральной ткани для ультрафи-

Таблица 2

Биомеханические показатели опытных и контрольных склеральных образцов

Показатель	SCXL (Рибофлавин + УФ-А)	Только рибофлавин	Только УФ-А	Контроль
Предел прочности, МПа	11,6±2,9* (171% ↑)	6,6±3,84 (97%)	7,1±3,6 (104%)	6,8±2,7 (100%)
Модуль Юнга, МПа	25,8±3,2* (164% ↑)	16,4±2,9 (104%)	17,9±3,5 (114%)	15,7±1,9 (100%)

Примечание:* p<0,05 – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

олетового излучения диапазона А. Показатель поглощения УФ-А кадаверной свиной склерой составил: интактной – 4,91±0,43, насыщенной рибофлавином – 9,04±0,83; склерой кроликов: интактной – 11,70±1,27, насыщенной рибофлавином – 16,2±0,72. На основе полученных данных предложена формула для расчета порогового значения интенсивности ультрафиолетового облучения при проведении процедуры SCXL.

Методами световой микроскопии, электроретинографии и оптической когерентной томографии выявлено, что выполнение SCXL с рибофлавином/ультрафиолетом А при исследованных параметрах (3 мВт/см², 30 минут) безопасно для структур глаза (роговицы, сетчатки и зрительного нерва).

Разработана щадящая технология фотополимеризации склеры с использованием устройства «УФалинк С», преимуществом которой является возможность проводить ультрафиолетовое облучение труднодоступных участков глазного яблока (экватора и заднего полюса) через малые паралимбальные разрезы конъюнктивно-теноновой оболочки. При этом экспериментально доказано эффективное повышение биомеханических прочностных характеристик склеральной ткани и продемонстрировано отсутствие повреждающего воздействия на структуры глаза.

Рекомендуется клиническое исследование процедуры кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А. Предложенные параметры SCXL (мощность 3 мВт/см², время облучения 30 минут с предварительным насыщением склеры

0,1% водным раствором рибофлавина) в экспериментах показали свою эффективность и безопасность. При проведении процедуры рекомендуется использовать фотосенсибилизатор рибофлавин на водной основе, без добавления декстрана, который приводит к дегидратации склеры и повышению ее проницаемости для ультрафиолетового света, что увеличивает риск повреждения внутренних оболочек глаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иомдина Е.Н., Бауэр С.М., Котляр К.Е. Биомеханика глаза: теоретические аспекты и клинические приложения. М.: Реал Тайм, 2015. 208 с.
2. 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.
3. Liu T.-X., Wang Z. Collagen crosslinking of porcine sclera using genipin. *Acta Ophthalmol.* 2013; 91(4): 253-257.
4. Dotan A., Kremer I., Livnat T. et al. Scleral cross-linking using riboflavin and ultraviolet-A radiation for prevention of progressive myopia in a rabbit model. *Exp. Eye Res.* 2014; 127: 190-195.
5. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am. J. Ophthalmol.* 2003; 135(5): 620-627.
6. 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.
7. Корниловский И.М. Спорные вопросы и новые подходы к проведению кросслинкинга в фоторефракционной хирургии роговицы. *Катарактальная и рефракционная хирургия.* 2016; 16(3): 13-19.
8. Малюгин Б.Э., Измайлова С.Б., Мерзлов Д.Е. и др. Отдаленные результаты использования различных технологий

УФ-кросслинкинга у пациентов с прогрессирующим кератоконусом. *Офтальмохирургия.* 2014; (4): 42-49.

9. Iomdina E., Tarutta E., Semchishen V. et al. Results of microinvasive cross-linking of rabbit posterior eye pole sclera. *Acta Ophthalmologica.* 2016; 94(S256).

10. Liu S., Li S., Wang B. et al. Scleral Cross-Linking Using Riboflavin UVA Irradiation for the Prevention of Myopia Progression in a Guinea Pig Model: Blocked Axial Extension and Altered Scleral Microstructure. *PLoS One.* 2016; 11: e0165792 pmid:27829051.

11. Wollensak G., Spoerl E. Collagen crosslinking of human and porcine sclera. *J. Cataract Refract. Surg.* 2004; 30(3): 689-695.

12. Choi S., Lee S.C., Lee H.J. et al. Structural response of human corneal and scleral tissues to collagen crosslinking treatment with riboflavin and ultraviolet A light. *Lasers Med. Sci.* 2013; 28(5): 1289-1296.

13. Wang M., Zhang F., Liu K., Zhao X. Safety evaluation of rabbit eyes on scleral collagen cross-linking by riboflavin and ultraviolet A. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2015; 43(2): 156-163.

14. Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л. и др. Влияние кросслинкинга с рибофлавином и ультрафиолетом А (UVA) на структуру склеральной ткани. *Офтальмологические ведомости.* 2017; 10(2): 6–12.

15. Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л. и др. Проницаемость склеральной ткани для ультрафиолета А в эксперименте. *Офтальмология.* 2017; 14(4): 363-367.

16. Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л., Вишняков Д.С., Астрелин М.Н. Безопасность кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А (UVA) для структур глаза в эксперименте. *Офтальмохирургия.* 2017; 4: 45-49.

17. Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л., Астрелин М.Н. Безопасность ультрафиолетового кросслинкинга склеры в эксперименте in vivo. *Известия Российской Военно-медицинской академии.* 2018; 37(2): 91-94.

18. Бикбов М.М., Суркова В.К., Усубов Э.Л., Харитонов С.В., Симонов А.Б., Астрелин М.Н. Влияние фотосенсибилизаторов на проницаемость склеральной ткани для ультрафиолета А в эксперименте. *Катарактальная и рефракционная хирургия.* 2017; 17(1): 32-35.