

БЕЗОПАСНОСТЬ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА СКЛЕРЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

М. М. Бикбов, В. К. Суркова, Э. Л. Усубов, М. Н. Астрелин

ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», г. Уфа, Россия

SAFETY OF UV CROSSLINKING OF THE SCLERA IN EXPERIMENT *IN VIVO*

M. M. Bikbov, V. K. Surkova, E. L. Usubov, M. N. Astrelin

Ufa research Institute of eye diseases of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia

Резюме

Цель: оценить безопасность ультрафиолетового кросслинкинга склеры методом оптической когерентной томографии в эксперименте *in vivo*.

Материалы и методы. Исследование проводили на 34 кроликах породы шиншилла (68 глаз) *in vivo*. На правых глазах выполняли процедуру кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А, левые — служили контролем. Процедуру кросслинкинга проводили следующим образом: насыщали склеру фотосенсибилизатором путем инстилляций 0,1% водного раствора рибофлавина мононуклеотида в течение 20 мин; затем выполняли облучение склеры ультрафиолетом А (длина волны 370 ± 5 нм, мощность излучения — 3 мВт/см^2) в течение 6 циклов по 5 мин (суммарное время облучения — 30 мин). Между циклами дополнительно инстиллировали раствор фотосенсибилизатора (2–3 капли). Состояние оболочек глазного яблока оценивали с помощью оптической когерентной томографии высокого разрешения до проведения ультрафиолетового кросслинкинга, через 1 сут, неделю и месяц после операции.

Результаты. Оптическая когерентная томография не выявила каких-либо патологических изменений после проведения ультрафиолетового кросслинкинга склеры. На снимках четко визуализировались слои сетчатки, хориоидея и склера. Проведенный морфометрический анализ не показал статистически значимых различий в толщине оболочек глаза между группами.

Заключение. Ультрафиолетовый кросслиндинг склеры (облучение мощностью 3 мВт/см^2 в течение 30 мин с предварительным насыщением склеры 0,1% водным раствором рибофлавина) является безопасным для оболочек глаза в эксперименте *in vivo* по данным оптической когерентной томографии. (1 рис., 3 табл., библ.: 6 ист.).

Ключевые слова: близорукость, кролик, кросслиндинг, миопия, оптическая когерентная томография, склера.

Статья поступила в редакцию 05.07.18 г.

ВВЕДЕНИЕ

Кросслиндинг — это образование дополнительных химических связей между макромолекулами, приводящее к увеличению прочности ткани. Уже более 10 лет данный метод успешно применяется для лечения кератэктазий [1, 2]. Высказываются предположения о перспективности использования кросслинкинга склеры с рибофлавином/ультрафиолетом А (UVA) при прогрессирующей близору-

Summary

Objective: to assess the safety of the ultraviolet scleral crosslinking by optical coherence tomography in the experiment *in vivo*.

Materials and methods. The study was performed on 34 Chinchilla rabbits (68 eyes) *in vivo*. On the right eyes the scleral crosslinking procedure with riboflavin/ultraviolet A was performed, the left ones served as a control. The procedure of crosslinking was carried out as follows: the sclera was saturated with a photosensitizer by instillation of a 0.1% aqueous solution of riboflavin mononucleotide for 20 minutes; then the sclera was irradiated with ultraviolet A (wavelength 370 ± 5 nm, radiation power 3 mW/cm^2) for 6 cycles of 5 minutes (total irradiation time — 30 minutes). The photosensitizer solution (2–3 drops) was additionally instilled between the cycles. The state of the layers of the eyeball was assessed using high-resolution optical coherence tomography before ultraviolet crosslinking, in 1 day, week and month after the surgery.

Results. Optical coherence tomography did not reveal any pathological changes after the ultraviolet crosslinking of the sclera. The images clearly visualized the layers of the retina, the choroid and the sclera. The performed morphometric analysis did not show statistically significant differences in the thickness of the eye layers between the groups.

Conclusion. Ultraviolet scleral crosslinking (irradiation with a power of 3 mW/cm^2 for 30 minutes with a preliminary saturation of the sclera with 0.1% aqueous solution of riboflavin) is safe for the eye layers in the experiment *in vivo* according to optical coherence tomography (1 figure, 3 tables, bibliography: 6 refs).

Key words: crosslinking, myopia, optical coherence tomography, rabbit, sclera.

Article received 05.07.18.

кости. Так, в ряде экспериментальных работ было показано положительное влияние кросслинкинга на биомеханическую прочность склеральной ткани, замедление прогрессирования смоделированной близорукости [3, 4]. Однако ученые наблюдали и серьезный побочный эффект процедуры в виде повреждения сетчатки при высокой мощности ультрафиолетового излучения [5, 6]. Таким образом, актуальна оценка безопасности процедуры кросслинкинга склеры.

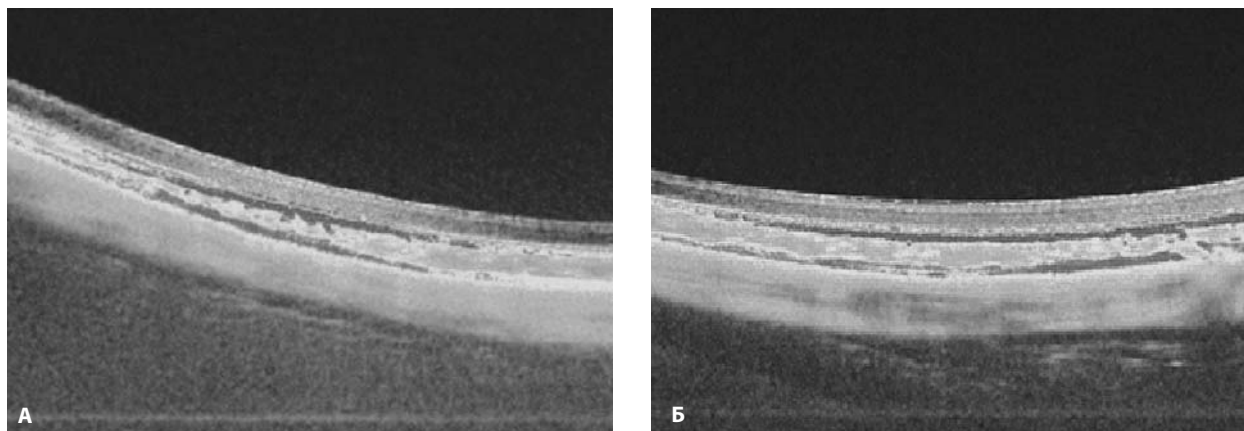


Рис. 1. Оптическая когерентная томография кроликов. 1-е сут после проведения процедуры ультрафиолетового кросслинкинга склеры. А — опыт; Б — контроль

ЦЕЛЬ

Оценить безопасность ультрафиолетового кросслинкинга склеры методом оптической когерентной томографии (ОКТ) в эксперименте *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 34 кроликах породы шиншилла (68 глаз) *in vivo*. На правых глазах выполняли процедуру кросслинкинга склеры с UVA, левые — служили контролем.

Кросслиндинг склеры выполняли под внутримышечной анестезией препаратом «Ксилазин» 2% в дозе 0,2 мл/кг и местной анестезией 0,4% раствором оксибупрокаина («Инокаин»). После установки блефаростата проводили циркулярный разрез конъюнктивы и теноновой оболочки в паралимбальной зоне и отсепаровывали их от глазного яблока тупым путем. Верхнюю и наружную прямые мышцы глазного яблока брали на швы-держатели и открывали доступ к верхненаружному сектору глазного яблока. Выполняли насыщение склеры фотосенсибилизатором путем инстилляцией 0,1% водного раствора рибофлавина мононуклеотида в течение 20 мин. Затем проводили облучение склеры ультрафиолетом А (длина волны 370 ± 5 нм, мощность излучения — 3 мВт/см^2) в течение 6 циклов по 5 мин (суммарное время облучения — 30 мин). Между циклами дополнительно инстиллировали раствор фотосенсибилизатора (2–3 капли). Облучение проводили с помощью офтальмологического аппарата для УФ-кросслинкинга «УФалинк» (Россия). После завершения процедуры швы-держатели удаляли. На конъюнктивальный разрез накладывали несколько узловых швов 8/0.

В послеоперационном периоде проводили местную антибактериальную и противовоспалительную

терапию в течение 1 нед (0,5% раствор левофлоксацина и 0,1% раствор дексаметазона 3 раза в день).

Состояние оболочек глазного яблока оценивали с помощью ОКТ до проведения ультрафиолетового кросслинкинга, через 1 сут, неделю и месяц после операции. После однократной умеренной седации (внутримышечное введение 2% раствора ксилазина гидрохлорида) кролика оборачивали в стерильную салфетку и фиксировали на руках. Далее животное подносили к подбороднику аппарата спектральной ОКТ высокого разрешения «DRI OCT Triton» в боковой позе, удобной для обследования. На каждом глазу выполняли по 3 последовательных снимка сетчатки в режиме «Macula Radial». Оценивали состояние слоев сетчатки, хориоидеи и склеры, а также проводили измерение их толщины.

Статистическую обработку получаемых данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ для персонального компьютера MS Excel, а также Statistica 7.0. Математический анализ включал вычисление средних показателей (M), среднего квадратичного отклонения, стандартной ошибки средней величины (m), показателей достоверности по Стьюденту (p). За достоверную значимость принимали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оптическая когерентная томография не выявила каких-либо патологических изменений после проведения ультрафиолетового кросслинкинга склеры. На снимках четко визуализировались слои сетчатки, хориоидея и склера (рис. 1). Результаты измерения толщины оболочек глаз представлены в табл. 1–3.

При проведении статистической обработки полученных результатов не выявлено статистически значимой разницы между исследованными группами ($p > 0,05$).

Таблица 1

Толщина сетчатки кроликов (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$)

Группа	До операции	1 сут после операции	1 нед после операции	1 мес после операции
SCXL (n = 15)	157,4 ± 7,3	152,2 ± 6,7	161,9 ± 5,7	153,8 ± 7,1
Контроль (n = 15)	149,1 ± 7,9	159,6 ± 7,2	157,5 ± 6,4	149,7 ± 6,8

Таблица 2

Толщина хориоидеи кроликов (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$)

Группа	До операции	1 сут после операции	1 нед после операции	1 мес после операции
SCXL (n = 15)	148,9 ± 7,4	152,9 ± 7,7	143,7 ± 7,6	153,1 ± 6,8
Контроль (n = 15)	154,4 ± 7,8	147,4 ± 6,9	149,4 ± 7,2	145,9 ± 7,9

Таблица 3

Толщина склеры кроликов (мкм) по данным ОКТ ($M \pm m$)

Группа	До операции	1 сут после операции	1 нед после операции	1 мес после операции
SCXL (n = 15)	282,1 ± 8,9	278,9 ± 9,7	291,6 ± 10,2	286,6 ± 9,4
Контроль (n = 15)	293,4 ± 9,3	287,2 ± 9,6	288,4 ± 9,1	292,4 ± 10,1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте мы использовали UVA мощностью 3 мВт/см² в течение 30 мин и водный раствор рибофлавина без содержания декстрана и не выявили серьезных побочных эффектов процедуры.

Таким образом, при данных параметрах ультрафиолетовый кросслинкинг является безопасным для оболочек глаза в эксперименте *in vivo*. Дальнейшие исследования и разработка оптимального протокола позволят адаптировать кросслинкинг склеры для применения в клинике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am. J. Ophthalmol.* 2003; 135 (5): 620–7.
2. Bikbov M. M., Surkova V. K. Corneal collagen cross-linking in keratoconus. A review. *Ophthalmology in Russia.* 2014; 11 (3): 13–8. Russian (Бикбов М. М., Суркова В. К. Метод перекрестного связывания коллагена роговицы при кератоконусе. Обзор литературы. *Офтальмология.* 2014; 11 (3): 13–8).
3. Wollensak G., Spoerl E. Collagen crosslinking of human and porcine sclera. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2004; 30: 689–695.
4. Bikbov M. M., Surkova V. K., Usubov E. L., Astrelin M. N. Scleral crosslinking with riboflavin and ultraviolet A (UVA). A review.

5. 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): 477–82.
6. 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): 1184–9.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бикбов Мухаррам Мухтарамович — докт. мед. наук, профессор, член-корреспондент Академии наук Республики Башкортостан, директор, ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», 450008, Россия, г. Уфа, ул. Пушкина, д. 90, e-mail: eye@anrb.ru

Суркова Валентина Константиновна — докт. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика, ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», 450008, Россия, г. Уфа, ул. Пушкина, д. 90, e-mail: ufaeyenauka@mail.ru

Усубов Эмин Логманович — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика, ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», 450008, Россия, г. Уфа, ул. Пушкина, д. 90, e-mail: emines.us@inbox.ru

Астрелин Михаил Николаевич — научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика, ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», 450008, Россия, г. Уфа, ул. Пушкина, д. 90, конт. тел: +7(903)3553198, e-mail: astrelin87@yandex.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Bikbov Mukharram M. — M. D., D. Sc. (Medicine), Professor of Ophthalmology, corresponding member of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Director, Ufa research Institute of eye diseases of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, 90, Pushkina str., Ufa, Russia, 450008, e-mail: eye@anrb.ru

Surkova Valentina K. — M. D., D. Sc. (Medicine), Leading researcher of the Cornea and Cataract Surgery Department, Ufa research Institute of eye diseases of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, 90, Pushkina str., Ufa, Russia, 450008, e-mail: ufaeyenauka@mail.ru

Usubov Emin L. — M. D., Ph. D. (Medicine), Leading researcher of the Cornea and Cataract Surgery Department, Ufa research Institute of eye diseases of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, 90, Pushkina str., Ufa, Russia, 450008, e-mail: emines.us@inbox.ru

Astrelin Mikhail N. — researcher of the Cornea and Cataract Surgery Department, Ufa research Institute of eye diseases of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, 90, Pushkina str., Ufa, Russia, 450008, cont. phone: +7(903)3553198 e-mail: astrelin87@yandex.ru