

Изменение структуры роговицы после применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе

С.Э. Аветисов^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7115-4275>

И.А. Бубнова¹, <https://orcid.org/0000-0003-1721-9378>, bubnovai@mail.ru

З.В. Сурнина^{1✉}, <https://orcid.org/0000-0001-5692-1800>, medzoe@yandex.ru

В.В. Аверич¹, <https://orcid.org/0000-0001-5778-4123>, veronikky@mail.ru

К.Г. Саркисова, <https://orcid.org/0000-0002-4406-3068>, kristina-sarkisova93@mail.ru

¹ Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет); 119991, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

Резюме

Введение. В статье рассмотрена объективная оценка состояния морфофункционального статуса роговицы при кератоконусе после перенесенной процедуры кросслинкинга роговичного коллагена.

Цель исследования. Оценить изменения структуры роговицы после применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе.

Материалы и методы. В исследование были включены 24 пациента – 30 глаз с КК I–III ст. в возрасте от 17 до 42 лет. Пациенты были обследованы до и после проведения процедуры кросслинкинга роговичного коллагена. Период послеоперационного наблюдения составил 12 мес. Для оценки локализации демаркационной линии пациентам выполняли оптическую когерентную томографию переднего отрезка глаза. При помощи лазерной конфокальной микроскопии проводили послойную оценку роговицы и нервных волокон роговицы с последующим анализом полученных конфокальных снимков с применением авторского алгоритма анализа.

Результаты и обсуждение. Полная эпителизация роговицы наступила на 3–5-й день после процедуры. Глубина залегания демаркационной линии, по данным ОКТ, в центре составляла в среднем 260 мкм, на периферии – 140 мкм. На первой неделе наблюдения отмечали выраженный отек наружной стромы, также в течение первого месяца отмечали снижение плотности и апоптоз кератоцитов. В период с 3-го по 12-й мес. послеоперационного наблюдения происходил регресс транзиторного лакунарного отека и восстановление плотности кератоцитов до исходного уровня. В первые три месяца визуализируется выраженное нарушение хода и структуры нервных волокон роговицы.

Заключение. Процедура кросслинкинга приводит к изменениям структуры роговицы, одним из которых является появление демаркационной линии в строме, что показывает глубину проникновения фотохимического процесса сшивания коллагена роговицы. С помощью метода лазерной конфокальной микроскопии роговицы возможно объективно оценить глубину данного воздействия, при этом значения, полученные в те же сроки наблюдения, сопоставимы с результатами ОКТ.

Ключевые слова: кросслиндинг роговичного коллагена, лазерная конфокальная микроскопия роговицы, оптическая когерентная томография, кератоконус, нервные волокна роговицы

Для цитирования: Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Сурнина З.В., Аверич В.В., Саркисова К.Г. Изменение структуры роговицы после применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе. *Медицинский совет.* 2022;16(6):226–233. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-6-226-233>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Changes in cornea structure after corneal collagen crosslinking in keratoconus

Sergey E. Avetisov^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7115-4275>

Irina A. Bubnova¹, <https://orcid.org/0000-0003-1721-9378>, bubnovai@mail.ru

Zoya V. Surnina^{1✉}, <https://orcid.org/0000-0001-5692-1800>, medzoe@yandex.ru

Veronika V. Averich¹, <https://orcid.org/0000-0001-5778-4123>, veronikky@mail.ru

Kristina G. Sarkisova¹, <https://orcid.org/0000-0002-4406-3068>, kristina-sarkisova93@mail.ru

¹ Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia

² Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 2, Bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia

Резюме

Introduction. The article considers an objective assessment of the state of morphofunctional status of cornea in keratoconus after a corneal collagen crosslinking procedure.

Aim. To assess changes in cornea structure after corneal collagen crosslinking in keratoconus.

Materials and methods. The study included 24 patients: 30 eyes with KC stage I–III aged 17 to 42 years. The patients were examined before and after the corneal collagen crosslinking procedure. The postoperative follow-up period was 12 months. The patients underwent anterior segment OCT (AS-OCT) imaging to assess the demarcation line depth. The cornea and cornea nerve fibers were assessed layer-by-layer using confocal laser scanning microscopy, followed by the analysis of resulting confocal images through the author's analysis algorithm.

Results and discussion. The epithelialization of the cornea completed on day 3–5 after the procedure. According to OCT findings, the depth of the demarcation line averaged to 260 μm in the center and 140 μm in the periphery. The pronounced edema of the outer stroma was observed during the first-week follow-up, and a decrease in the density and apoptosis of keratocytes was noted during the first month. Over a 3–12-month postoperative follow-up period, the transient lacunar edema regressed and the density of keratocytes was restored to the baseline level. During the first three months, a pronounced disruption of the direction and structure of the cornea nerve fibres is seen.

Conclusion. The crosslinking procedure results in changes in the cornea structure, one of which is appearance of the demarcation line in the stroma, which indicates the depth of penetration of the photochemical corneal collagen crosslinking process. The laser corneal confocal microscopy allows to objectively assess the depth of this effect, while the values obtained in the same follow-up periods are comparable with the findings of OCT imaging.

Keywords: corneal collagen crosslinking, laser corneal confocal microscopy, optical coherence tomography, keratoconus, corneal nerve fibers

For citation: Avetisov S.E., Bubnova I.A., Surnina Z.V., Averich V.V., Sarkisova K.G. Changes in cornea structure after corneal collagen crosslinking in keratoconus. *Meditsinskiy Sovet.* 2022;16(6):226–233. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-6-226-233>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день кератоконус (КК) остается самой распространенной эктазией роговицы у лиц молодого и среднего возраста [1–3]. Характерной особенностью кератоконуса является формирование протрузии в центральной или парацентральной зонах роговицы за счет ослабления биомеханических свойств с последующим изменением ее формы и толщины [4]. По мере прогрессирования заболевания параллельно с изменением топографических параметров роговицы происходит увеличение миопической рефракции глаза и появление иррегулярного астигматизма, что в совокупности приводит к значительному снижению зрительных функций [3, 5].

Кросслинкинг роговичного коллагена (КРК) («перекрестная сшивка-связывание» – от *англ.* cross-linking) – это минимально инвазивный хирургический метод, являющийся в настоящее время единственным патогенетически обоснованным в лечении КК [6, 7]. Основная цель данного метода – остановка прогрессирования кератэктазии путем увеличения биомеханической прочности стромы роговицы за счет реакций фотодинамической полимеризации в фибриллах коллагена [8–10].

По данным многочисленных исследований, в большинстве случаев после проведения процедуры кроссликинга роговичного коллагена регистрируется стабилизация эктатического процесса или его значительное замедление [11–14]. Вместе с тем в послеоперационном периоде объективно можно наблюдать такие изменения роговицы, как реэпителизация в пределах хирургического воздействия, транзиторный отек и псевдохейз в передних и средних слоях стромы с дальнейшим появлением характерной демаркационной линии [15–17]. Все это

свидетельствует о том, что методика КРК влияет на роговичную ткань на микроструктурном уровне.

Для объективной оценки эффективности проведенного хирургического лечения необходимо понимание морфофункционального статуса роговицы, которое обеспечивается с помощью оптической когерентной томографии (ОСТ) и лазерной конфокальной микроскопии (ЛКМ) [18–20]. Обе методики относятся к неинвазивным методам исследования, позволяющим прижизненно и послойно оценить глубину и объем воздействия процедуры на структуры роговицы.

Одним из ключевых моментов для оценки эффективности проведения КРК является определение т. н. демаркационной линии (ДЛ), которая визуализируется на сканограммах ОСТ в виде линии, разделяющей строму роговицы, подвергшуюся воздействию кроссликинга, от интактной части [21].

В большинстве случаев демаркационная линия выявляется в сроки от 2 нед. до 3 мес. после СХЛ, при этом она может располагаться на различной глубине стромы и иметь отличия в характеристиках (прерывистость, яркость, четкость) в зависимости от применяемого протокола кроссликинга [22]. Помимо этого, глубина залегания ДЛ не идентична в центральной и периферических зонах роговицы [23].

Лазерная конфокальная микроскопия обладает более высокой визуализирующей способностью, что позволяет изучать изменения в роговице во всех слоях на микроструктурном уровне, и в частности нервные волокна роговицы (НВП) с максимально высоким разрешением и контрастом, что обеспечивает качественную оценку восстановления тканей в результате проведения КРК [24, 25]. Кроме этого, ЛКМ дает возможность применять метод объективного количественного, полностью

автоматизированного анализа направленности и извитости НВР [26]. При этом на оценку наличия изменений, нервных волокон роговицы направлено не столь большое внимание, а существующие работы не дают полноценного понимания о состоянии нервных волокон роговицы до и после процедуры КРК.

Цель – оценить изменение структуры роговицы после применения кроссликинга роговичного коллагена при кератоконусе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 24 пациента – 30 глаз с КК I–III ст.: 16 мужчин (22 глаза – 73%) и 8 женщин (8 глаз – 27%) в возрасте от 17 до 42 (Me – 19) лет.

Пациенты были обследованы до и после проведения КРК. Критериями включения стали: прогрессирующий КК I–III стадии, минимальная толщина роговицы более 400 мкм. Критерии исключения: противопоказания к проведению КРК (непереносимость рибофлавина, минимальная толщина роговицы менее 400 мкм, возраст менее 18 лет, низкая острота зрения с максимальной коррекцией, наличие рубцов роговицы, аллергический конъюнктивит); сопутствующие заболевания глазной поверхности; травмы глаза или офтальмологические операции в анамнезе; регулярные инстилляции лекарственных препаратов; сопутствующие общесоматические заболевания, заболевания системного характера и применение лекарственных средств, которые имеют возможное влияние на результаты настоящего исследования.

Период послеоперационного наблюдения составил 12 мес.: плановые осмотры проводили спустя 1 нед., через 1, 3, 6 и 12 мес. после проведения КРК.

Для оценки локализации демаркационной линии пациентам выполняли оптическую когерентную томографию переднего отрезка глаза (ОКТ) на приборе Visante OCT (Carl Zeiss, Германия) в центральной и в 3–6-мм зоне.

При помощи лазерной конфокальной микроскопии роговицы (HRT III, Гейдельберг, Германия) исследовали структуру и НВР роговицы с последующим анализом получившихся конфокальных снимков с применением авторского алгоритма анализа Liner 1.2 S. и Liner Calculate [27, 28]. Программные обеспечения позволяли анализировать коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР, характеризующие извитость нервного волокна, также дополнительно оценивали длину и плотность нервных волокон.

Всем пациентам проводили КРК по стандартному протоколу. Первым этапом после инстилляций местно-нестезирующих капель 0,5% раствора проксиметакаина (Алкаин, ALCON) дезэпителизировали роговицу в пределах ее оптической и параоптической зон в диаметре около 5–6 мм. Вторым этапом передние две трети стромы роговицы насыщали фотосенсибилизатором – 0,1% раствором рибофлавина (витамин B₂) с 20% раствором декстрана (протектор роговицы для кроссликинга Декстралинк, ГУ «Уфимский НИИГБ») путем шести инстилляций с пятиминутным интервалом в течение 30 мин. На третьем

этапе облучали роговицу ультрафиолетом спектра А с длиной волны 370 нм и мощностью 3,0 мВт/см² с общей дозой облучения 5,4 Дж/см² в течение последующих 30 мин, продолжая инстилляцию раствора рибофлавина с пятиминутным интервалом. Операцию завершали инстилляцией 0,25% раствора хлорамфеникола (Левомецетин) и наложением бандажной мягкой контактной линзы. Линзу удаляли после завершения эпителизации роговицы через 3–5 дней. В послеоперационном периоде назначали инстилляцию 0,25% раствора хлорамфеникола (Левомецетин) 4 р/сут в течение 7 сут. После наступления полной эпителизации роговицы назначали инстилляцию 0,1% раствора дексаметазона (Офтан Дексаметазон, «Сантен») 4 р/сут в течение 7 сут. с последующей постепенной отменой в течение одной недели.

Аналитическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2007. Учитывая относительно небольшие объемы выборки, применяли методы описательной статистики. Все численные результаты исследования были представлены как медиана и диапазон – Me (min-max) или min-max (Me), средние значения были указаны при подсчете коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервных волокон.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

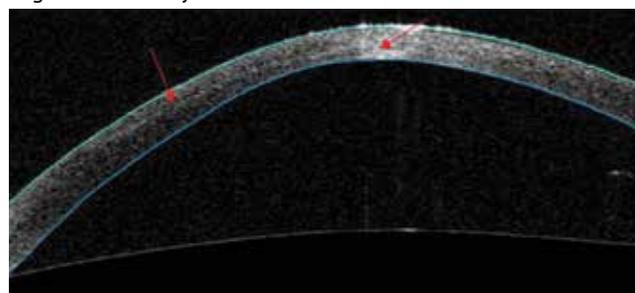
Полная эпителизация роговицы наступила на 3–5-й день после процедуры. У всех пациентов послеоперационный период протекал без осложнений, при этом помутнений роговицы выявлено не было.

Через 1 мес. по данным оптической когерентной томографии во всех случаях была выявлена демаркационная линия, которая располагалась на различной глубине в центральной и периферической зонах роговицы. Глубина залегания стромальной демаркационной линии по данным ОКТ в центре составляла в среднем 260 (230; 290) мкм, на периферии – 140 (135; 170) мкм. Достоверно значимое различие в глубине локализации демаркационной линии в центральной зоне роговицы и зоне 5–6 мм от центра ($p < 0,001$) было выявлено во всех случаях.

При этом на обзорных оптических томограммах роговицы видно, что демаркационная линия в центральной

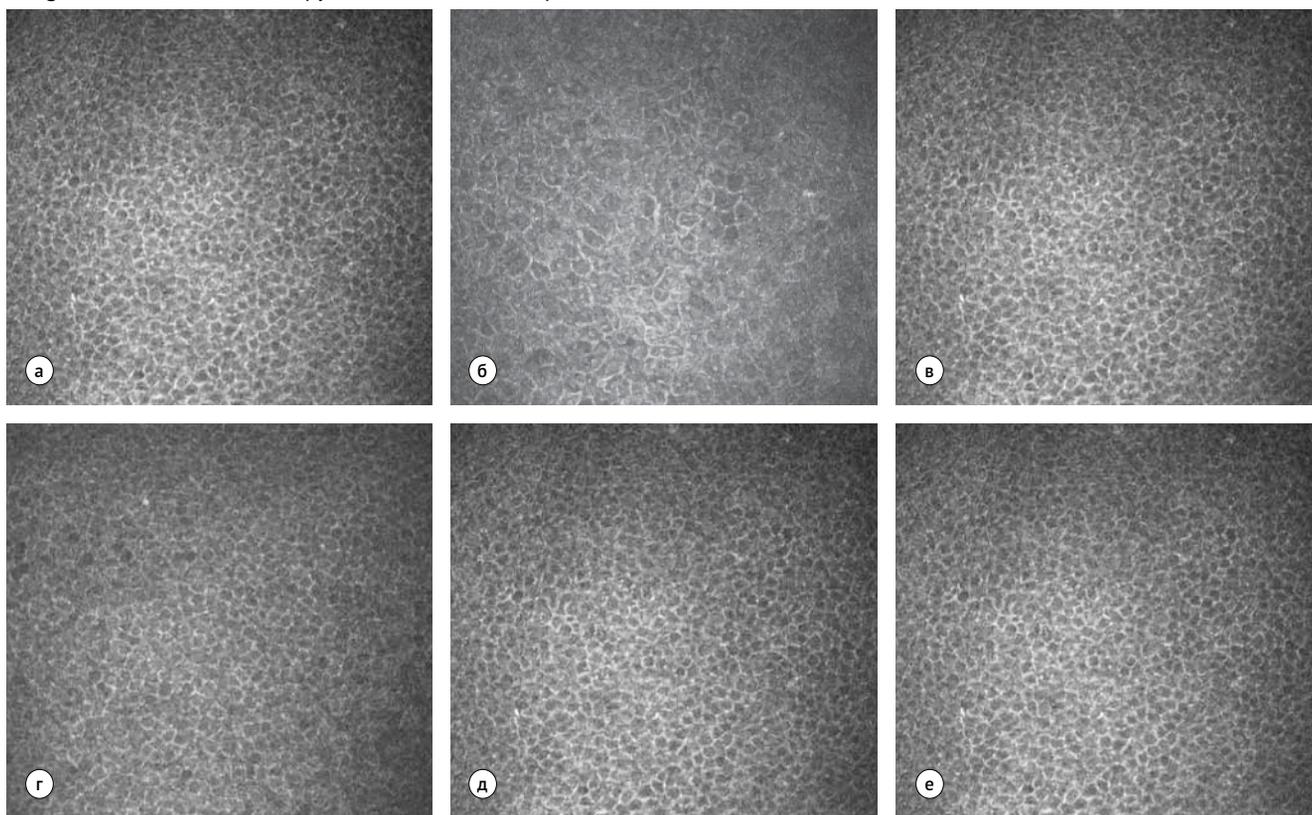
● **Рисунок 1.** Оптическая когерентная томография переднего сегмента глаза

● **Figure 1.** Optical coherence tomography of the anterior segment of the eye



Обзорная оптическая томограмма роговицы через 1 месяц после кроссликинга. Демаркационная линия в центре и на периферии роговицы указана стрелками.

- **Рисунок 2.** Данные конфокальной микроскопии эпителия роговицы
- **Figure 2.** Confocal microscopy data of the corneal epithelium



а) до проведения кросслинкинга; б) через 10 дней; в) через 1 месяц; г) через 3 мес.; д) через 6 мес.; е) через 12 мес. после проведения кросслинкинга

зоне залегала глубже и носила более четкий характер, тогда как по направлению к периферии была более поверхностной и прерывистой (рис. 1).

Нами отмечено достаточно быстрое восстановление эпителиального слоя благодаря его быстрой регенерации (рис. 2б, е). В сроки наблюдения до 10 дней отмечали незначительный полиморфизм и полимегатизм клеток эпителия (рис. 2б).

Нервные волокна роговицы в норме выглядят как белые вытянутые однонаправленные нити на темном фоне (рис. 3а); примечательно, что в течение 10 дней после проведения кросслинкинга НВР становились «четкообразными» и изогнутыми (рис. 3б). В сроки наблюдения до шести месяцев количество основных нервных стволов и их ветвей значительно снизилось, также отмечали уменьшение длины и плотности основных НВР и их отростков (рис. 3в, д). Было зафиксировано anomальное ветвление и увеличение извитости, выражаемое авторскими коэффициентами анизотропии и симметричности направленности НВР [27, 28]. Длина и плотность НВР и их отростков восстанавливалась в сроки наблюдения около года, однако так и не происходило полного восстановле-

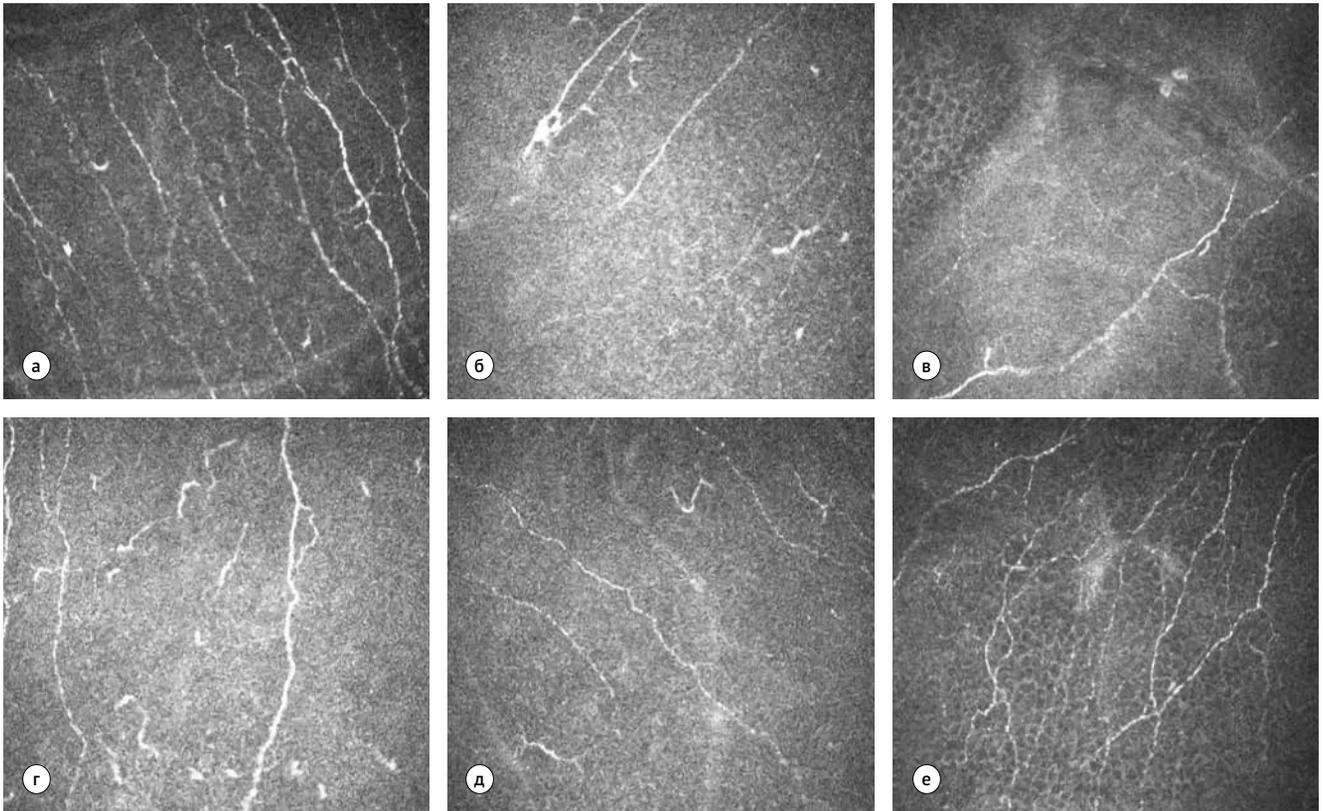
ния извитости НВР. Также отмечали наличие невром, участков поврежденных нервов, восстановление которых наблюдалось в течение года после вмешательства. Средние значения извитости НВР в разные сроки наблюдения, выражаемые авторскими коэффициентами, отмечены в таблице. Отмечаем уменьшение коэффициента анизотропии направленности в течение первых трех месяцев после проведения кросслинкинга роговичного коллагена, что говорит о наличии патологической извитости НВР. В сроки наблюдения 6 и 12 мес. отмечено постепенное увеличение коэффициента до исходных значений, что говорит о восстановлении структуры нервных волокон, уменьшении его чрезмерной извитости. Коэффициент симметричности направленности НВР статистически значимых изменений у пациентов в разные сроки наблюдения не продемонстрировал.

В первую неделю после проведения кросслинкинга роговичного коллагена отмечали выраженный стромальный отек, а также в течение первого месяца наблюдения – снижение плотности кератоцитов и их апоптоз, выраженный в форме пчелиных сот. Границы ядер кератоцитов при этом были нечеткими, разрозненными (рис. 4б).

- **Таблица.** Средние значения коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервных волокон роговицы
- **Table.** Average values of directional anisotropy coefficients and directional symmetry coefficients of the corneal nerve fibers

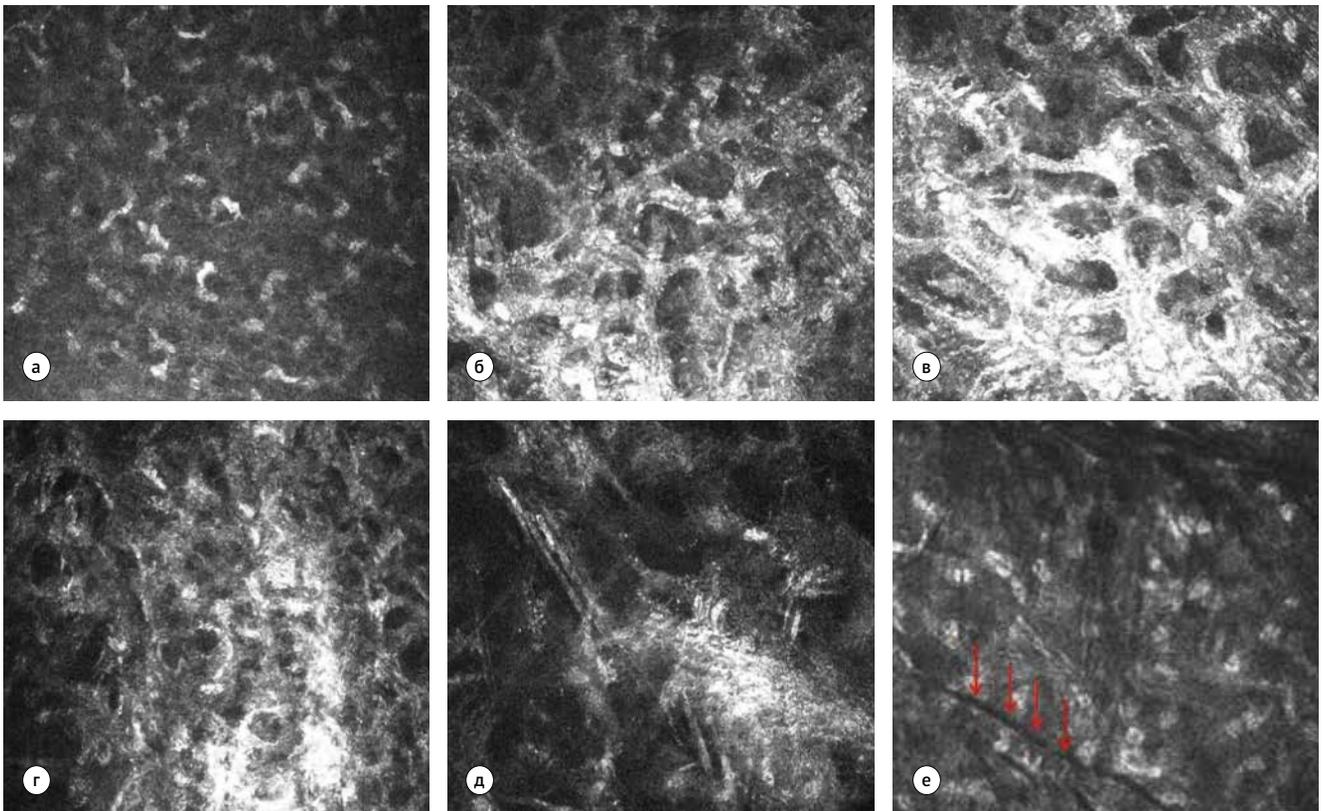
	до	1 нед.	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Kaniz	3,01 ± 0,2	2,76 ± 0,11	2,73 ± 0,4	2,88 ± 0,28	3,03 ± 0,17	3,14 ± 0,2
Ksym	0,9 ± 0,01	0,93 ± 0,02	0,92 ± 0,02	0,9 ± 0,04	0,93 ± 0,03	0,93 ± 0,02

- **Рисунок 3.** Данные конфокальной микроскопии суббазальных нервных волокон роговицы
- **Figure 3.** Confocal microscopy data of subbasal corneal nerve fibers



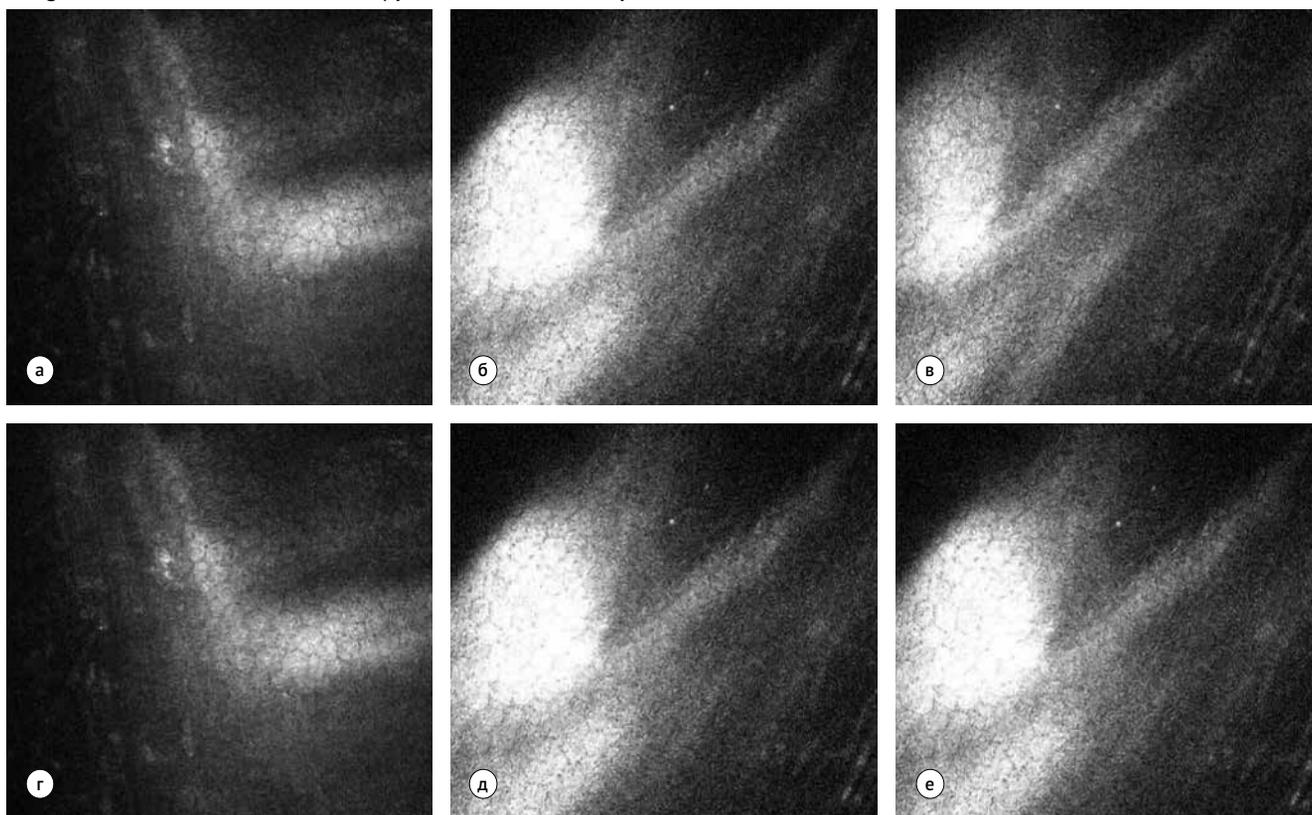
а) до проведения кросслинкинга; б) через 10 дней; в) через 1 месяц; г) через 3 мес.; д) через 6 мес.; е) через 12 мес. после проведения кросслинкинга

- **Рисунок 4.** Данные конфокальной микроскопии стромы роговицы
- **Figure 4.** Confocal microscopy data of the corneal stroma



а) до проведения кросслинкинга; б) через 10 дней; в) через 1 месяц; г) через 3 мес.; д) через 6 мес.; е) через 12 мес. после проведения кросслинкинга. «Складчатость» коллагена указана стрелкой.

- **Рисунок 5.** Данные конфокальной микроскопии эндотелиального слоя роговицы
- **Figure 5.** Data of confocal microscopy of the endothelial layer of the cornea



а) до проведения кросслинкинга; б) через 10 дней; в) через 1 месяц; г) через 3 мес.; д) через 6 мес.; е) через 12 мес. после проведения кросслинкинга. Глубина срезов 460–520 нм.

Через 1 мес. после проведения процедуры кросслинкинга роговичного коллагена роговицы выявлялась гибель кератоцитов (*рис. 4в*) на глубине 267 (236; 308) мкм, что соответствовало значениям глубины залегания демаркационной линии, полученным в те же сроки наблюдения с помощью оптической когерентной томографии.

К 3-му мес. наблюдения количество клеток стромы увеличивалось, а явления лакунарного отека стромы постепенно уменьшалось (*рис. 4з*). К 6–12 мес. послеоперационного наблюдения происходило восстановление плотности кератоцитов до исходного уровня, однако появившаяся «складчатость», обусловленная эффектом стягивания коллагена, так и оставалась в течение всего периода наблюдения (*рис. 4д, е*).

На *рис. 5* показаны данные конфокальной микроскопии эндотелиального слоя роговицы. На данных изображениях на протяжении всего периода наблюдения выраженных нарушений нами не было зафиксировано, однако присутствовали умеренные признаки полиморфизма и полимегатизма эндотелиоцитов, характерные для кератоконуса.

У всех пациентов нашего исследования на фоне проведения кросслинкинга роговичного коллагена происходило изменение структуры всех слоев роговицы, кроме эндотелиального монослоя. К концу годового срока наблюдения за пациентами нами было зафиксировано восстановление большинства структурных элементов роговицы.

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании демаркационная линия была выявлена через 1 мес. после проведения процедуры, при этом в центральной зоне она залегала глубже и носила более четкий характер, тогда как по направлению к периферии была более поверхностной и прерывистой. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований, в которых было отмечено, что демаркационная линия в 3-мм парацентральной зоне роговицы располагается на 65% более поверхностно, чем в центре после стандартного КПК [29–31].

К настоящему времени многочисленными исследованиями были определены характерные морфологические изменения роговицы *in vivo* в разные сроки наблюдения после перенесенного КПК, такие как эпителиопатия, отек, уменьшение длины и плотности основных НВР, псевдо-хейз, апоптоз кератоцитов в строме роговицы на глубине до 300 мкм [19, 25].

Проведенное нами изучение структуры роговицы с помощью лазерной конфокальной микроскопии в период до 1 года после процедуры КПК выявило типичные изменения в операционной зоне роговицы со стороны всех ее морфологических структур, за исключением интактного эндотелия, как было отмечено выше.

Особенностью нашего исследования было изучение изменения длины и плотности основных нервных волокон роговицы в сроки наблюдения до 1 года с примене-

нием авторских коэффициентов, которые количественно позволили оценить извитость нервных волокон, их направление, ход и структуру.

В нашем исследовании по данным лазерной конфокальной микроскопии через 1 мес. после проведения процедуры кросслинкинга роговичного коллагена роговицы выявлялась гибель кератоцитов на глубине 267 (236; 308) мкм, что соответствовало значениям глубины залегания демаркационной линии 260 (230; 290) мкм, полученным в те же сроки наблюдения с помощью оптической когерентной томографии. Таким образом, подтверждена возможность оценки глубины и эффективности воздействия процедуры КРК с помощью как лазерной конфокальной микроскопии роговицы, так и оптической когерентной томографии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процедура кросслинкинга приводит к изменениям структуры роговицы, одним из которых является появление демаркационной линии в строме, что показывает

глубину проникновения фотохимического процесса сшивания коллагена роговицы. В исследуемых зонах роговицы глубина залегания демаркационной линии различна – в центральной зоне она расположена глубже и носит более четкий характер, тогда как по направлению к периферии становится более поверхностной и прерывистой.

В первые три месяца визуализируется выраженное нарушение хода и структуры НВР, тогда как длина и плотность НВР и их отростков восстанавливается в сроки наблюдения около года, но полного восстановления извитости НВР так и не происходит. В течение первого месяца после процедуры отмечается транзиторный отек стромы роговицы, который проходит к шести месяцам наблюдения.

По данным лазерной конфокальной микроскопии роговицы также возможно оценить глубину воздействия процедуры КРК, при этом значения, полученные в те же сроки наблюдения, сопоставимы с результатами ОКТ. 

Поступила / Received 10.01.2022

Поступила после рецензирования / Revised 12.02.2022

Принята в печать / Accepted 05.03.2022

Список литературы / References

- Rabinowitz Y.S. Keratoconus. *Surv Ophthalmol.* 1998;42(4):297–319. [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(97\)00119-7](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(97)00119-7).
- Godefrooij D.A., De Wit G.A., Uiterwaal C.S., Imhof S.M., Wisse R.P. Age-specific incidence and prevalence of keratoconus: a nationwide registration study. *Am J Ophthalmol.* 2017;175:169–172. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2016.12.015>.
- Bejdic N., Biscevic A., Pjano M.A., Ivezic B. Incidence of Keratoconus in Refractive Surgery Population of Vojvodina-Single Center Study. *Mater Sociomed.* 2020;32(1):46. <https://doi.org/10.5455/msm.2020.32.46-49>.
- Demir S., Ortak H., Yeter V., Alim S., Sayn O., Taş U., Sönmez B. Mapping corneal thickness using dual-scheimpflug imaging at different stages of keratoconus. *Cornea.* 2013;32(11):1470–1474. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3182a7387f>.
- Аветисов С.Э., Новиков И.А., Патеюк Л.С. Кератоконус: этиологические факторы и сопутствующие проявления. *Вестник офтальмологии.* 2014;130(4):110–116. Режим доступа: <https://www.mediasphera.ru/issues/vestnik-oftalmologii/2014/4/030042-465X2014419>.
- Avetisov S.E., Novikov I.A., Pateiuk L.S. Keratoconus: etiological factors and accompanying manifestations. *Vestnik Oftalmologii.* 2014;130(4):110–116. (In Russ.) Available at: <https://www.mediasphera.ru/issues/vestnik-oftalmologii/2014/4/030042-465X2014419>.
- Mazzotta C., Raiskup F., Baiocchi S., Scarcelli G., Friedman M.D., Traversi C. *Crosslinking Results and Literature Overview. In: Management of Early Progressive Corneal Ectasia. Springer;* 2017, pp. 33–62. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61137-2_2.
- Wollensak G., Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35(3):540–546. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2008.11.036>.
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(02\)02220-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(02)02220-1).
- Rubinfeld R.S., Caruso C., Ostacolo C. Corneal cross-linking: the science beyond the myths and misconceptions. *Cornea.* 2019;38(6):780–790. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001912>.
- Bao F., Zheng Y., Liu C., Zheng X., Zhao Y., Wang Y. et al. Changes in corneal biomechanical properties with different corneal cross-linking irradiances. *J Refract Surg.* 2018;34(1):51–58. <https://doi.org/10.3928/1081597X-20171025-01>.
- Бикбов М.М., Суркова В.К. Метод перекрестного связывания коллагена роговицы при кератоконусе. Обзор литературы. *Офтальмология.* 2014;11(3):13–19. Режим доступа: <https://www.ophtalmojournal.com/opht/article/view/183>.
- Bikbov M.M., Surkova V.K. Corneal collagen crosslinking for keratoconus. A review. *Oftalmologiya.* 2014;11(3):13–19. (In Russ.) Available at: <https://www.ophtalmojournal.com/opht/article/view/183>.
- Анисимова Н.С., Анисимов С.И., Шилова Н.Ф., Земская А.Ю., Гаврилова Н.А., Анисимова С.Ю. Ультрафиолетовый кросслиндинг в лечении кератоконуса при существенном уменьшении толщины роговицы. *Вестник офтальмологии.* 2020;136(2):99–106. <https://doi.org/10.17116/oftalma202013602199>.
- Anisimova N.S., Anisimov S.I., Shilova N.F., Zemskaya A.Y., Gavrilova N.A., Anisimova S.Y. Ultraviolet crosslinking in the treatment of keratoconus in patients with thin corneas. *Vestnik Oftalmologii.* 2020;136(2):99–106. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma202013602199>.
- Li H., Liu T., Mu B., Zhao X., Xue C., Shen M. et al. Biomechanical effect of ultraviolet-A-riboflavin cross-linking on simulated human corneal stroma model and its correlation with changes in corneal stromal microstructure. *Exp Eye Res.* 2020;197:108109. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108109>.
- Бубнова И.А., Кузнецов А.В., Зелянина Е.В. Исследование эффективности процедуры «перекрестной сшивки» коллагена роговицы у пациентов с прогрессирующим кератоконусом в отдаленные сроки наблюдения. *Вестник офтальмологии.* 2015;131(5):38–42. <https://doi.org/10.17116/oftalma2015131538-42>.
- Bubnova I.A., Kuznetsov A.V., Zelyanina E.V. Long-term efficacy of corneal collagen cross-linking in patients with progressive keratoconus. *Vestnik Oftalmologii.* 2015;131(5):38–42. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2015131538-42>.
- Ozgunhan E.B., Sezgin Akcay B.I., Yildirim Y., Karatas G., Kurt T., Demirok A. Evaluation of corneal stromal demarcation line after two different protocols of accelerated corneal collagen cross-linking procedures using anterior segment optical coherence tomography and confocal microscopy. *J Ophthalmol.* 2014;2014:981893. <https://doi.org/10.1155/2014/981893>.
- Kymionis G.D., Tsoularnas K.I., Grentzelos M.A., Liakopoulos D.A., Tsakalis N.G., Blazaki S.V., et al. Evaluation of corneal stromal demarcation line depth following standard and a modified-accelerated collagen cross-linking protocol. *Am J Ophthalmol.* 2014;158(4):671–675. e671. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.07.005>.
- Mazzotta C., Balestrazzi A., Baiocchi S., Traversi C., Caporossi A. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Exp Ophthalmol.* 2007;35(6):580–582. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2007.01536.x>.
- Kymionis G.D., Grentzelos M.A., Plaka A.D., Stojanovic N., Tsoularnas K.I., Mikropoulos D.G. et al. Evaluation of the corneal collagen cross-linking demarcation line profile using anterior segment optical coherence tomography. *Cornea.* 2013;32(7):907–910. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e31828733ea>.
- Mazzotta C., Hafezi F., Kymionis G., Caragiuli S., Jacob S., Traversi C. et al. In vivo confocal microscopy after corneal collagen crosslinking. *Ocul Surf.* 2015;13(4):298–314. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.04.007>.
- Filippello M., Stagni E., Buccoliero D., Bonfiglio V., Avitabile T. Transepithelial cross-linking in keratoconus patients: confocal analysis. *Optom Vis Sci.* 2012;89(10):e1–e7. <https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e318269c8e5>.

21. Seiler T, Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line. *Cornea*. 2006;25(9):1057–1059. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000225720.38748.58>.
22. Moramarco A, Iovieno A, Sartori A, Fontana L. Corneal stromal demarcation line after accelerated crosslinking using continuous and pulsed light. *J Cataract Refract Surg*. 2015;41(11):2546–2551. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2015.04.033>.
23. Ng A.L.K., Chan T.C.Y., Lai J.S.M., Cheng A.C.K. Comparison of the central and peripheral corneal stromal demarcation line depth in conventional versus accelerated collagen cross-linking. *Cornea*. 2015;34(11):1432–1436. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000626>.
24. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, Calienno R, Mastropasqua R, Agnifili L, Toto L. Morphological modification of the cornea after standard and transepithelial corneal cross-linking as imaged by anterior segment optical coherence tomography and laser scanning in vivo confocal microscopy. *Cornea*. 2013;32(6):855–861. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3182844c60>.
25. Бубнова И.А., Сурнина З.В., Аверич В.В., Саркисова К.Г. Влияние кросс-линкинга роговичного коллагена на структуру роговицы при кератоконусе. *Вестник офтальмологии*. 2020;136(5):268–276. <https://doi.org/10.17116/oftalma2020136052268>.
Bubnova I.A., Surnina Z.V., Averich V.V., Sarkisova K.G. The effects of corneal collagen cross-linking on the corneal structure in keratoconus. *Vestnik Oftalmologii*. 2020;136(5):268–276. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2020136052268>.
26. Сурнина З.В. Методы и клиническое значение оценки состояния нервных волокон роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2021;137(2):108–113. <https://doi.org/10.17116/oftalma2021137021108>.
Surnina Z.V. Methods and clinical significance of the condition of corneal nerve fibers. *Vestnik Oftalmologii*. 2021;137(2):108–113. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2021137021108>.
27. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Новый принцип морфометрического исследования нервных волокон роговицы на основе конфокальной биомикроскопии при сахарном диабете. *Вестник офтальмологии*. 2015;131(4):5–14. <https://doi.org/10.17116/oftalma201513145-14>.
Avetisov S.E., Novikov I.A., Makhotin S.S., Surnina Z.V. New approach to corneal nerve fibers morphometry in diabetes mellitus on the basis of confocal biomicroscopy. *Vestnik Oftalmologii*. 2015;131(4):5–14. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma201513145-14>.
28. Avetisov S.J., Novikov I.A., Mahotin S.S., Surnina Z.V. Calculation of anisotropy and symmetry coefficients of corneal nerve orientation based on automated recognition of digital confocal images. *Biomedical Engineering*. 2015;49(3):155–159. <https://doi.org/10.1007/s10527-015-9519-5>.
29. Yam J.C., Cheng A.C. Reduced cross-linking demarcation line depth at the peripheral cornea after corneal collagen cross-linking. *J Refract Surg*. 2013;29(1):49–53. <https://doi.org/10.3928/1081597X-20121228-03>.
30. Koller T, Schumacher S, Fankhauser F.2nd, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet a crosslinking of the paracentral cornea. *Cornea*. 2013;32(2):165–168. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e318269059b>.
31. Бикбов М.М., Суркова В.К., Халимов А.Р., Усубов Э.Л., Халимова Л.И. Топографическая локализация демаркационной линии после УФ-кросс-линкинга роговицы при прогрессирующем кератоконусе. *Офтальмология*. 2018;15(1):32–37. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2018-1-32-37>.
Bikbov M.M., Surkova V.K., Khalimov A.R., Usubov E.L., Khalimova L.I. Topographic Localization of the Demarcation Line after UV Corneal Crosslinking in Progressive Keratoconus. *Oftalmologiya*. 2018;15(1):32–37. (In Russ.) <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2018-1-32-37>.

Информация об авторах:

Аветисов Сергей Эдуардович, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой глазных болезней, научный руководитель, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; заведующий кафедрой глазных болезней, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет); 119991, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

Бубнова Ирина Алексеевна, д.м.н., старший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; bubnovai@mail.ru

Сурнина Зоя Васильевна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; medzoe@yandex.ru

Аверич Вероника Валерьевна, к.м.н., младший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; veronikky@mail.ru

Саркисова Кристина Гургеновна, аспирант отдела патологии оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; kristina-sarkisova93@mail.ru

Information about the authors:

Sergey E. Avetisov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Acad. RAS, Head of Department of Eye Diseases, Academic Supervisor, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; Head of Department of Eye Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 2, Bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia

Irina A. Bubnova, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Department of Ocular Media Pathology, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; bubnovai@mail.ru

Zoya V. Surnina, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Department of Ocular Media Pathology, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; medzoe@yandex.ru

Veronika V. Averich, Cand. Sci. (Med.), Junior Research Associate, Department of Ocular Media Pathology, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; veronikky@mail.ru

Kristina G. Sarkisova, Postgraduate Student, Department of Ocular Media Pathology, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; kristina-sarkisova93@mail.ru