

УДК 616-092

Оценка эффекта кросслинкинга при фоторефракционной кератоабляции с рибофлавином по данным трансмиссионной электронной микроскопии

Борзенко С.А.^{1,3}, Корниловский И.М.², Бурцев А.А.², Шацких А.В.¹

¹ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 105203, Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Трансмиссионная электронная микроскопия является одним из ключевых маркёров при рассмотрении патогенеза коллагенового кросслинкинга. **Цель работы:** оценить эффект кросслинкинга при фоторефракционной кератоабляции с рибофлавином по данным трансмиссионной электронной микроскопии. **Материал и методы.** Экспериментальное исследование было выполнено *in vivo* на 16 кроликах породы Шиншилла, с массой тела от 2,5 до 3,5 кг, в возрасте от 1 до 1,5 лет. Животные были разделены на контрольную и опытную группы по 8 животных на каждый из способов проведения трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомии (ТрансФРК), без и с предварительным насыщением стромы 0,25% изотоническим раствором рибофлавина. На светооптическом уровне исследовали эпителий, наружные и глубокие слои стромы в проекции оперативного вмешательства. По данным трансмиссионной электронной микроскопии оценивали волокна и пучки коллагена, и их концентрацию на единицу площади, а также клеточный компонент стромы роговицы в проекции оперативного вмешательства. **Результаты.** На светооптическом уровне роговица кролика по завершению эпителизации сохраняла нормальную морфологию плоского многослойного неороговевающего эпителия, с практически полным восстановлением стратификации слоев. В случае образцов после абляции с предварительным насыщением стромы раствором рибофлавина наблюдались единичные вакуоли в клетках базального слоя и появление псевдомногорядности. Комплексной морфологической оценкой установлено, что роговицы из экспериментальной группы (с предварительным насыщением стромы рибофлавином) были подвержены изменениям соответствующим кросслинkinгу стромы с формированием стабильных поперечных сшивок коллагеновых волокон. В роговицах контрольной группы без насыщения стромы рибофлавином морфологически выявлено полное восстановление структуры после лазерного воздействия без признаков кросслинкинга стромы. **Заключение.** После проведения эксимерлазерной абляции с рибофлавином обнаруженные при трансмиссионной электронной микроскопии стабильные сшивки в коллагеновых структурах стромы роговицы подтверждают наличие эффекта кросслинкинга при таком способе фоторефракционной кератэктомии.

Ключевые слова: кросслинkinг роговицы; рибофлавин; фоторефракционная кератэктомия; трансмиссионная электронная микроскопия.

Для цитирования: Борзенко С. А., Корниловский И.М., Бурцев А.А., Шацких А.В. Оценка эффекта кросслинкинга при фоторефракционной кератоабляции с рибофлавином по данным трансмиссионной электронной микроскопии. *Патогенез.* 2019; 17(2): 45-50

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.02.45-50

Для корреспонденции: Борзенко Сергей Анатольевич, e-mail: mdborzenok@yandex.ru

Финансирование: Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 12.12.2018

The crosslinking effect of photorefractive ablation with riboflavin evaluated with transmission electron microscopy

Borszenok S.A.^{1,3}, Kornilovskiy I.M.², Burtsev A.A.², Shatskikh A.V.¹

¹ S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Beskudnikovskij Blvd. 59a, Moscow 127486, Russian Federation

² N.I. Pirogov National Medical and Surgical Center, Nizhnyaya Pervomayskaya Str. 70, Moscow 105203, Russian Federation

³ A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya Str. 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

Transmission electron microscopy is one of the key methods in studying the pathogenesis of collagen crosslinking. Aim. To evaluate the effect of crosslinking induced by photorefractive ablation of the cornea with riboflavin using transmission electron

microscopy. **Material and methods.** This experimental *in vivo* study was performed on 16 eyes of 16 Chinchilla rabbits weighing from 2.5 to 3.5 kg, aged from 1 to 1.5 years. Animals were divided into control and experimental groups, including 8 animals for each of the transepithelial photorefractive keratectomy (TransFRK) methods, with and without prior saturation of the stroma with a 0.25% isotonic riboflavin solution. The epithelium and outer and deep layers of the stroma were studied in the projection of surgery at the light-optical level. Based on data of the transmission electron microscopy, collagen fibers and bundles, and their concentration per unit area, and the cellular component of corneal stroma were evaluated. **Results.** The rabbit cornea studied at the light-optical level upon completion of epithelialization maintained a normal morphology of the flat multi-layered non-squamous epithelium with almost complete recovery of the layer stratification. In post-ablation samples with the prior saturation of stroma with riboflavin solution, isolated vacuoles were observed in cells of the basal layer along with emergence of pseudostratified epithelium. According to results of the complex morphological evaluation, corneas of the experimental group (with riboflavin pre-saturation of the stroma) showed changes corresponding to the stroma crosslinking with formation of stable cross-links of collagen fibers. In the cornea of the control group (without riboflavin saturation of the stroma), the stromal structure completely recovered after the laser treatment without any signs of stromal crosslinking. **Conclusion.** As detected by transmission electron microscopy, the stable cross-links in collagen structures of the corneal stroma induced by excimer laser ablation with riboflavin confirm the presence of the crosslinking effect in using the given method of the photorefractive keratectomy.

Key words: cornea cross-linking; riboflavin; photorefractive keratectomy; transmission electron microscopy.

For citation: Borzenok S.A., Kornilovsky I.M., Burtsev A.A., Shatskikh A.V. [The crosslinking effect of photorefractive ablation with riboflavin evaluated with transmission electron microscopy]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(2): 45-50 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.02.45-50

For correspondence: Borzenok Sergei Anatolievich **e-mail:** mdborzenok@yandex.ru

Funding: The study has no sponsorship.

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

Received: 12.12.2018

Введение

Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) является одним из ключевых маркёров при рассмотрении патогенеза коллагенового кросслинkingа. Такие исследования приобретают особую значимость на этапах разработки новых методик роговичного кросслинkingа, применяемого в практической офтальмологии при эктазиях роговицы различной этиологии. Ослабление биомеханических свойств истонченной роговой оболочки имеет место после различных лазерных фоторефракционных операций. Особенно сильно прочностные свойства роговицы нарушаются при операциях эксимерлазерного *in situ* кератомилёза с формированием поверхностного лоскута на ножке посредством микрокератома или фемтосекундного лазера [1–2]. В последние годы проведение традиционного и ускоренного кросслинkingа в лазерной кераторефракционной хирургии роговицы предлагается в качестве метода профилактики ослабления прочностных свойств роговицы и развития индуцированной ятрогенной кератоктазии [3–7]. Однако наличие побочных эффектов самой методики кросслинkingа препятствует более широкому его внедрению в клиническую практику. Одним из новых подходов к проведению кросслинkingа в фоторефракционной хирургии роговицы явился отказ от дополнительного облучения роговицы УФ излучением. Для этого предлагается использовать для активации рибофлавина вторичное излучение, индуцируемое в ходе выполнения рефракционной фотоабляции роговицы после предварительного насыщения её стромы рибофлавином [8–11].

Цель работы: оценить эффект кросслинkingа при фоторефракционной абляции с рибофлавином по данным трансмиссионной электронной микроскопии.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование было выполнено *in vivo* на 16 глазах 16 кроликов породы Шиншилла, с массой тела от 2,5 до 3,5 кг, в возрасте от 1 до 1,5 лет. Животным под наркозом (Золетил-100, в/в), в асептических условиях операционной ФГБУ Института Усовершенствования врачей им. Н.И. Пирогова, на эксимерлазерной офтальмологической установке Wavelight-Allegretto 200 (США) была выполнена трансэпителиальная фоторефракционная кератотомия (тФРК). Отбор, содержание и наблюдение животных в эксперименте осуществлялись в условиях виварно-экспериментального комплекса НИИ Митотехники Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова, согласно санитарно-эпидемиологическим и этическим нормам центра для проведения экспериментальных исследований на животных SPF статуса (specified pathogen free). Все исследования на животных проводились в соответствии с международными стандартами GLP (Good Laboratory Practice, Надлежащая лабораторная практика). Перед проведением экспериментов все животные прошли ветеринарное и офтальмологическое обследование и признаны здоровыми.

Животные были разделены на контрольную и опытную группы, в каждой из которых было по 8 особей на каждый из способов проведения трансэпителиальной ФРК (ТрансФРК) – без и с предварительным насыщением стромы 0,25% изотоническим раствором рибофлавина. В первой, контрольной, группе была выполнена трансэпителиальная фоторефракционная кератотомия по стандартному протоколу на глубину 50 мкм. Во второй, опытной, группе после деэпителизации на каждом глазу проводилось предварительное аэрозольное насыщение стромы 0,25% изото-

ническим раствором рибофлавина в течение 3 минут, после чего выполнялась кератоабляция 50 мкм. Для аэрозольного насыщения использовался небулайзер V.Well WN114 (Великобритания) с мембранно-сетчатой (MESH) технологией дисперсирования раствора. Аэрозольное орошение 0,25% изотоническим раствором рибофлавина с помощью ультразвукового небулайзера позволило интенсифицировать насыщение стромы. Это было связано с высокой дисперсностью аэрозольных частиц, что способствовало их более быстрому и глубокому проникновению в строму роговицы, повышению их фармакологической активности. Кроме того, при такой технологии исключалось образование неравномерного слоя раствора рибофлавина на поверхности стромы перед проведением её фото-рефракционной абляции.

Животных наблюдали, регистрировали клиническое состояние с описанием офтальмологического статуса на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки, и выводили из эксперимента на 31-е сутки путем передозировки препарата для наркоза. Сразу после декапитации выполнялась энуклеация исследуемых глаз с последующим помещением их в герметичную влажную камеру, приготовленную на базе изотонического 0,9% раствора NaCl с температурой хранения 4° полутонких: стеклянным ножом ~1 мкм; срезы переносились на предметное стекло, грелись на термостойке (60° ультратонких: пирамидки вырезались в областях интереса (определены на полутонких срезах); срезы изготавливались с использованием алмазного ножа (DiATOME Ultra Diamond Knife 45), ловились на бленду с фармваровой подложкой (толщина среза 140 нм, подложка сделана с помощью 0,3% раствора формвара в хлороформе).

Контрастирование срезов (по Рейнольдсу) – 1% водным раствором уранила ацетата. Визуализация: электронный микроскоп JEM-1400 (Jeol) при ускоряющем напряжении 80 киловольт. Увеличение от × 2500 до × 25000.

Исследования ультраструктуры стромы роговицы посредством трансмиссионной электронной

микроскопии осуществляли на базах Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

На светооптическом уровне оценивался эпителий, наружные и глубокие слои стромы в проекции оперативного вмешательства. По данным трансмиссионной электронной микроскопии оценивались волокна и пучки коллагена, и их концентрация на единицу площади, а также клеточный компонент стромы роговицы в проекции оперативного вмешательства.

Результаты исследования

Обнаружено, что в обеих группах животных к концу периода постоперационного наблюдения на светооптическом уровне роговица имела характерные признаки эпителизации с сохранением исходной морфологии – плоского многослойного нероговеающего эпителия, с практически полным восстановлением стратификации слоев. При этом в случае образцов после абляции с предварительным насыщением стромы раствором рибофлавина (рис. 1) наблюдались единичные вакуоли в клетках базального слоя и появление псевдомногорядности. Строма представлена укладкой правильно ориентированных коллагеновых волокон без признаков отека, с умеренным количеством кератоцитов. В передних слоях роговицы выявлен волнообразный ход стромальных волокон. Во всех случаях выявлена субэпителиальная фиброплазия различной степени выраженности. Все выявленные морфологические особенности могут соответствовать исходу изменений, вызванных лазерным воздействием.

Роговицы кроликов из контрольной группы также во всех случаях были с полной эпителизацией, с сохранением исходной морфологии – плоского

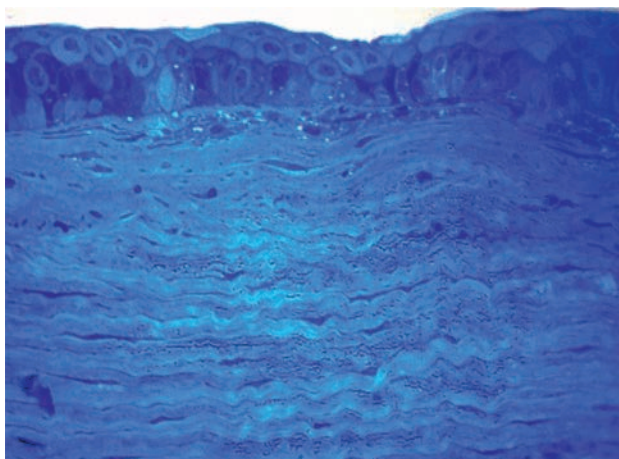
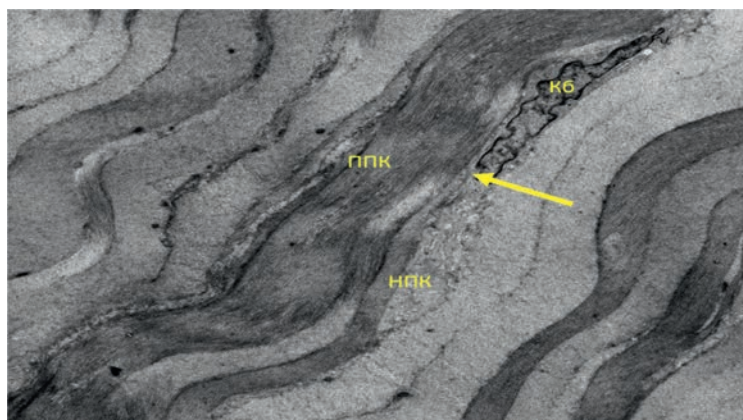


Рис. 1. Полутонкие срезы роговицы кроликов экспериментальной группы с насыщением стромы рибофлавином. Окраска толуидиновым синим. Увеличение × 400.



Рис. 2. Полутонкие срезы роговицы кроликов контрольной группы без насыщения рибофлавином. Окраска толуидиновым синим. Увеличение × 400.

А



Б

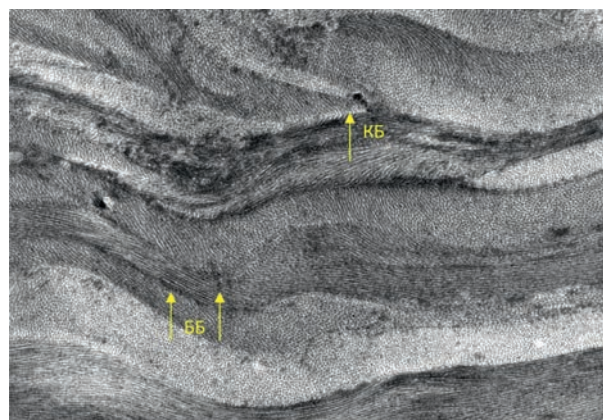


Рис. 3. Трансмиссионная электронная микроскопия роговицы кроликов экспериментальной группы с насыщением стромы рибофлавином. Продольный срез пучков коллагена. А – слияние (стрелка) новообразованного пучка коллагена (НПК) вблизи активно синтезирующего кератоцита (КБ) с предсуществующим пучком (ППК). Б – 2 варианта слияния пучков: бок в бок (ББ) и конец в бок (КБ). Увеличение $\times 5000$.

многослойного неороговевающего эпителия, с полным восстановлением стратификации слоев (**рис. 2**). Строма представлена укладкой правильно ориентированных коллагеновых волокон без признаков отека, с умеренным количеством кератоцитов. Волнообразного хода стромальных волокон не обнаружено. Субэпителиальная фиброплазия отсутствует. По данным световой микроскопии наблюдается полное восстановление структуры роговицы после лазерного воздействия.

По данным трансмиссионной электронной микроскопии в экспериментальной группе с насыщением стромы рибофлавином в передних слоях стромы (прилежащих к зоне абляции) роговицы наблюдаются укрупнение волокон и пучков коллагена. На снимке видно слияние (стрелка) новообразованного

пучка коллагена (НПК) вблизи активно синтезирующего кератоцита (КБ) с предсуществующим пучком (ППК) (**рис. 3, А**). Представлены 2 варианта слияния пучков: бок в бок (ББ) и конец в бок (КБ) (**рис. 3, Б**).

В контрольной группе без насыщения рибофлавином в строме роговицы ход коллагеновых волокон не изменен, визуализируются параллельные пучки с равномерной толщиной и однородной структурой (**рис. 4**).

При рассмотрении поперечных срезов пучков коллагена образцов роговиц из экспериментальной группы определяется компактность упаковки волокон за счет увеличения количества поперечных сшивок (*стрелки*) (**рис. 5, А**). В контрольной группе подобные изменения не обнаружены (**рис. 5, Б**). При количественном сравнении расстояния между фибриллами в экспериментальной группе оказалось меньше, чем в контрольной группе, концентрация на единицу площади примерно в два раза больше.

Таким образом, по результатам комплексной морфологической оценки установлено, что роговицы из экспериментальной группы (с предварительным насыщением стромы рибофлавином) были подвержены изменениям соответствующим кросслинкингу стромы с формированием стабильных поперечных сшивок коллагеновых волокон. В роговицах из контрольной группы, без насыщения стромы рибофлавином, морфологически выявлено полное восстановление структуры после лазерного воздействия без признаков кросслинкинга стромы.

Обсуждение

Интрастромальные изменения роговицы, присущие процедуре кросслинкинга, достаточно широко описаны в литературе. Однако, исходя из исследований различных авторов, все эти изменения затрагивают практически все слои стромы, тогда как в нашем случае они были характерны лишь для зоны,

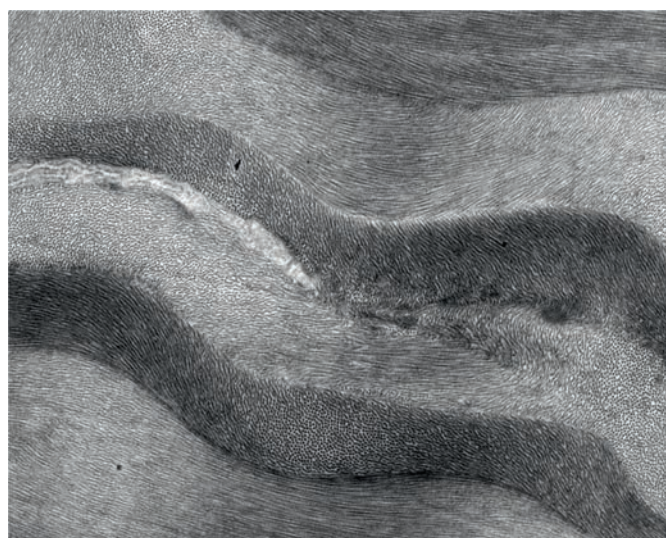
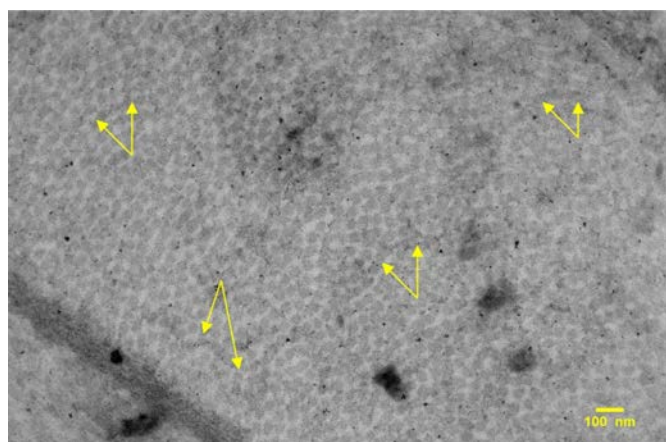


Рис. 4. Трансмиссионная электронная микроскопия роговицы кроликов контрольной группы без насыщения стромы рибофлавином. Продольный срез пучков коллагена. Увеличение $\times 5000$.

А



Б

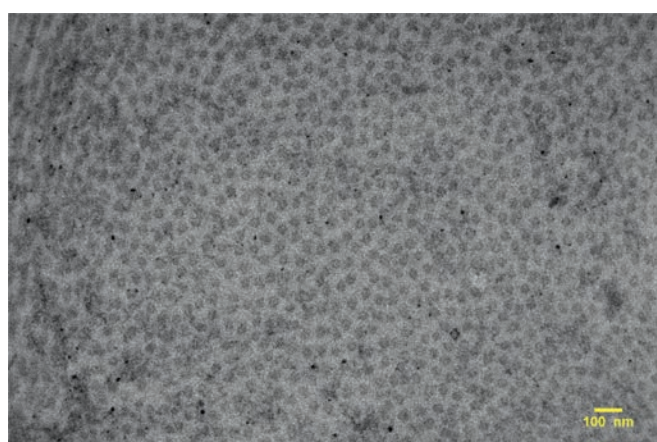


Рис. 5. Трансмиссионная электронная микроскопия роговицы кроликов экспериментальной группы с насыщением стромы рибофлавином (А) и контрольной группы без насыщения стромы рибофлавином (Б). Поперечный срез пучков коллагена. Увеличение $\times 25000$.

прилежащий к зоне абляции. В первую очередь это объясняется кратковременностью воздействия эксимерлазерного УФ-излучения, а также сравнительно неглубоким проникновением рибофлавина в строму роговицы, что также обуславливается временем экспозиции фотосенсибилизатора (по сравнению со стандартным протоколом процедуры кросслинkinга). Однако, обнаруженные нами изменения в строме роговицы качественно полностью соответствуют таковым при процедуре кросслинkinга по стандартному протоколу.

Теоретическое обоснование возможности достижения эффекта кросслинkinга при короткой экспозиции УФ облучения убедительно было показано в работе Semchishen и соавт. [12]. На основании проведенных авторами исследования была обоснована возможность значительного сокращения длительности УФ облучения до 70—80 с.

Мы полагаем, что при проведении кросслинkinга роговицы в условиях *in vivo* неизбежным было нарушение закона Бунзена-Роско о прямой корреляционной зависимости эффекта кросслинkinга от длительности и суммарной дозы УФ излучения. Это было связано с тем, что *in vivo* имели место динамические растянутые во времени вторичные реакции, обусловленные, в частности, развитием в роговице оксидативного стресса и асептического воспаления. При этом накопление в строме окисных радикалов оказывало дополнительное воздействие на рибофлавин, что усиливало эффект кросслинkinга. Такой патогенетический механизм лазериндуцированного кросслинkinга при абляции стромы роговицы с рибофлавином не противоречит данным литературы.

В предлагаемой технологии кросслинkinга в фоторефракционной хирургии роговицы время воздействия индуцированного абляцией вторичного излучения предопределялось объемом кератэктомии и не превышало 60 с. Однако, как показали экспериментальные исследования с биомеханическим

тестированием, этого оказалось достаточно для инициирования эффекта кросслинkinга в строме роговицы, насыщенной 0,25% изотоническим раствором рибофлавина. При этом поглощение, трансформирование и рассеивание эксимерлазерного излучения в роговице возбуждало вторичное излучение с флуоресценцией коллагеновых белков.

С позиций всего вышеизложенного может быть объяснен механизм лазериндуцированного кросслинkinга после фоторефракционной кератэктомии с рибофлавином, важным пусковым звеном которого является вторичное абляционное излучение.

Заключение

По данным трансмиссионной электронной микроскопии после фоторефракционной абляции с предварительным насыщением роговицы 0,25% изотоническим раствором рибофлавина в слоях стромы, прилежащих к зоне абляции, отмечаются ультраструктурные изменения с формированием стабильных поперечных сшивок коллагеновых волокон, указывающие на наличие эффекта кросслинkinга.

Список литературы

1. Reinstein D.Z., Archer T.J., Randleman J. B. Mathematical Model to Compare the Relative Tensile Strength of the Cornea After PRK, LASIK and Small Incision Lenticule Extraction. *J. Refract. Surg.* 2013; 7: 454-460. DOI: 10.3928/1081597X-20130617-03
2. Schmack I., Dawson D.G., McCarey B.E., Waring G.O. 3rd, Grossniklaus H.E., Edelhauser H.F. Cohesive tensile strength of human LASIK wounds with histologic, ultrastructural, and clinical correlations. *J. Refract. Surg.* 2005; 21(5): 433-445.
3. Behndig A. Corneal collagen crosslinking for ectasia after refractive surgery. *Ophthalmology.* 2017; 124(10): 1440-1441. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.06.011
4. Celik H.U., Alagöz N., Yildirim Y. Agca A., Marshall J., Demirok A., Yilmaz O.F. Accelerated corneal crosslinking concurrent with laser in situ keratomileusis. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2012; 38: 1424-1431. DOI: 10.1016/j.jcrs.2012.03.034
5. Mackool R.J. Crosslinking for iatrogenic keratectasia after LASIK and for keratoconus. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2008; 34(6): 879. DOI: 10.1016/j.jcrs.2008.02.027

6. Hafezi F., Kanellopoulos J., Wiltfang R., Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J. Cat. Refract. Surg.* 2007; 33: 2035-2040. DOI: 10.1016/j.jcrs.2007.07.028
7. Kohlhaas M., Spoerl E., Speck A., Schilde T., Sander D., Pillunat L.E. A New Treatment of Keratectasia after LASIK by Using Collagen with Riboflavin/UVA Light Crosslinking. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 2005; 222: 430-436. DOI: 10.1055/s-2005-857950
8. Корниловский И.М., Бурцев А.А. Теоретическое и экспериментальное обоснование лазериндуцированного кроссликинга в фоторефракционной хирургии роговицы. *Катарактальная и рефракционная хирургия.* 2015; 15(1): 20-25.
9. Корниловский И.М., Султанова А.И., Бурцев А.А. Фотопротекция рибофлавином с эффектом кроссликинга при фоторефракционной абляции роговицы. *Вестник офтальмологии.* 2016; 132(3):37-41. DOI: 10.17116/oftalma2016132337-41
10. Kornilovskiy I.M., Kasimov E.M., Sultanova A.I., Burtsev A.A. Laser-induced corneal cross-linking upon photorefractive ablation with riboflavin. *Clin. Ophthalmol.* 2016; 10: 587-592. DOI: 10.2147/OPTH.S101632
11. Kornilovskiy I.M. Optical Coherence Tomography and Densitometry in Assessing the Effect of Corneal Collagen Cross-Linking Upon Photorefractive Ablation with Riboflavin. *J. Eye Study Treat.* 2018; 1: 5-13. DOI:10.33513/JEST/1801-02
12. Semchishen A., Mrochen M., Semchishen V. Model for optimization of the UV-A/riboflavin strengthening (cross-linking) of the cornea: percolation threshold. *Photochem. Photobiol.* 2015; 91: 1403-1411. DOI: 10.1111/php.12498
3. Behndig A. Corneal collagen crosslinking for ectasia after refractive surgery. *Ophthalmology. Ophthalmology.* 2017; 124(10): 1440-1441. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.06.011
4. Celik H.U., Alagöz N., Yildirim Y. Agca A., Marshall J., Demirok A., Yilmaz O.F. Accelerated corneal crosslinking concurrent with laser in situ keratomileusis. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2012; 38: 1424-1431. DOI: 10.1016/j.jcrs.2012.03.034
5. Mackool R.J. Crosslinking for iatrogenic keratectasia after LASIK and for keratoconus. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2008; 34(6): 879. DOI: 10.1016/j.jcrs.2008.02.027
6. Hafezi F., Kanellopoulos J., Wiltfang R., Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J. Cat. Refract. Surg.* 2007; 33: 2035-2040. DOI: 10.1016/j.jcrs.2007.07.028
7. Kohlhaas M., Spoerl E., Speck A., Schilde T., Sander D., Pillunat L.E. A New Treatment of Keratectasia after LASIK by Using Collagen with Riboflavin/UVA Light Crosslinking. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 2005; 222: 430-436. DOI: 10.1055/s-2005-857950
8. Kornilovsky I.M., Burtsev A.A. [Theoretical and experimental substantiation of laser-induced crosslinking in photorefractive corneal surgery]. *Kataraktal'naya i refrakcionnaya hirurgiya [Cataract and refractive surgery]*. 2015; 15(1): 20-25. (in Russian)
9. Kornilovsky I.M., Sultanova A.I., Burtsev A.A. [Photoprotection by Riboflavin with crosslinking effect in photorefractive corneal ablation]. *Vestnik oftal'mologii [Journal of ophthalmology]*. 2016; 132(3):37-42, DOI: 10.17116/oftalma2016132337-41 (in Russian)
10. Kornilovskiy I.M., Kasimov E.M., Sultanova A.I., Burtsev A.A. Laser-induced corneal cross-linking upon photorefractive ablation with riboflavin. *Clin. Ophthalmol.* 2016; 10: 587-592. DOI: 10.2147/OPTH.S101632
11. Kornilovskiy I.M. Optical Coherence Tomography and Densitometry in Assessing the Effect of Corneal Collagen Cross-Linking Upon Photorefractive Ablation with Riboflavin. *J. Eye Study Treat.* 2018; 1: 5-13. DOI:10.33513/JEST/1801-02
12. Semchishen A., Mrochen M., Semchishen V. Model for optimization of the UV-A/riboflavin strengthening (cross-linking) of the cornea: percolation threshold. *Photochem. Photobiol.* 2015; 91: 1403-1411. DOI: 10.1111/php.12498

References

1. Reinstein D.Z., Archer T.J., Randleman J. B. Mathematical Model to Compare the Relative Tensile Strength of the Cornea After PRK, LASIK and Small Incision Lenticule Extraction. *J. Refrac. Surg.* 2013; 7: 454-460. DOI: 10.3928/1081597X-20130617-03
2. Schmack I., Dawson D.G., McCarey B.E., Waring G.O. 3rd, Grossniklaus H.E., Edelhauser H.F. Cohesive tensile strength of human LASIK wounds with histologic, ultrastructural, and clinical correlations. *J. Refract. Surg.* 2005; 21(5): 433-445.

Сведения об авторах:

Борзенко Сергей Анатольевич — доктор медицинских наук, руководитель Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры глазных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Корниловский Игорь Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий учебной частью кафедры глазных болезней Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Бурцев Александр Александрович — аспирант кафедры глазных болезней Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шацких Анна Викторовна — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией патологической анатомии и гистологии глаза Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации