

4. Бикбов, М.М. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы / М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 71, № 3. – С. 224-232.
5. Уровень рибофлавина во влаге передней камеры глаза при использовании фотосенсибилизаторов на различной полимерной основе (экспериментальное исследование) / А.Р. Халимов [и др.] // Вестник Волгоградского гос. мед. университета. – 2013. – Т. 4, № 48. – С. 195-198.
6. Халимов, А.Р. Рибофлавин+полимер целлюлозы – новое средство для насыщения роговицы при ультрафиолетовом кроссликинге коллагена / А.Р. Халимов, Н.Е. Шевчук, Г.М. Казакбаева // Сборник материалов X съезда офтальмологов России. – М.: Офтальмология, 2015. – С. 201.

УДК 617.713
© А.Р. Халимов, 2017

А.Р. Халимов
**ПРЕКОРНЕАЛЬНАЯ ПЛЕНКА РИБОФЛАВИНА В СИСТЕМЕ
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ.
EX VIVO-ИССЛЕДОВАНИЕ**
ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа

В статье представлены сведения по влиянию прекоorneальной пленки рибофлавина на степень ультрафиолетовой абсорбции роговицы в процессе выполнения УФ-кросслинкинга в эксперименте. Модель УФ-сшивания (370 нм, 3 мВт/см²) воспроизводилась на свиных роговицах с использованием препаратов 0,1% рибофлавина для их насыщения: в 1-й группе с изотоническим раствором, во 2-й – с 20% декстраном, в 3-й – с 1,0% гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ). Изменения показаний УФ-поглощения систем роговица – рибофлавин – прекоorneальная пленка и роговица – рибофлавин регистрировались устройством УФ-тестер. Установлено, что роговица, обработанная изотоническим раствором рибофлавина или раствором рибофлавина с ГПМЦ, обладала наиболее выраженным УФ-абсорбирующим эффектом за счет активной пенетрации фотосенсибилизатора в строму. При этом вязкие растворы, имеющие в своем составе ГПМЦ или декстран, свой защитный эффект дополнительно реализовывали за счет устойчивой прекоorneальной рибофлавиновой пленки. Уменьшение коorneальной толщины вследствие обезвоживающего действия декстрана способствовало снижению светоабсорбирующих свойств роговицы, которое компенсировалось посредством стабильной пленки, образованной рибофлавином и декстраном. Изотонический раствор рибофлавина образует неустойчивый поверхностный слой фотосенсибилизатора, что требует его более частых инстилляций.

Ключевые слова: роговица, рибофлавин, ультрафиолетовое сшивание (кросслинкинг), прекоorneальная пленка.

A.R. Khalimov
RIBOFLAVIN FILM IN UV CORNEAL CROSS-LINKING. EX VIVO STUDY

The article presents information on the effect of precorneal film of Riboflavin on the degree of UV absorption of the cornea in the process of performing UV cross-linking experiment. Model of UV crosslinking (370 nm, 3 mW/cm²) was reproduced on porcine corneas with the use of drugs of 0.1% Riboflavin for saturation: in the 1st group, the isosmotic solution, 2nd – 20% dextran, 3rd – 1.0% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Variation in the readings of the UV absorption of the system «cornea – Riboflavin – precorneal film and cornea – Riboflavin» was registered by the device «UV tester». It is established that the cornea, treated with isosmotic solution of Riboflavin or a solution of Riboflavin with HPMC had the most pronounced UV-absorbing effect due to the active penetration of the photosensitizer into the stroma. Herewith, viscous solutions, having in its composition HPMC or dextran, implemented its protective effect by sustainable precorneal riboflavin film. The decrease in corneal thickness due to the dehydrating action of dextran contributed to the decline of light-absorbing properties of the cornea, which was offset by stable film formed by Riboflavin and dextran. Isosmotic solution of Riboflavin forms an unstable surface layer of the photosensitizer that require more frequent instillation.

Key words: cornea, riboflavin, UV cross-linking, precorneal film.

Последнее десятилетие ультрафиолетовое сшивание (кросслинкинг) роговицы успешно применяется с целью приостановки прогрессирования кератэктазий. Способ основан на комбинированном воздействии рибофлавина, выступающего в качестве фотосенсибилизатора, и ультрафиолетового (УФ) излучения с длиной волны 370 нм на роговую оболочку глаза [1]. В результате происходит повышение прочностных свойств роговицы, обусловленное сшивками компонентов основного вещества стромы.

Техника УФ-кросслинкинга постоянно совершенствуется, однако приоритетными в ней неизменно остаются безопасность и эффективность процедуры, которые могут быть обеспечены в первую очередь за счет содер-

жания интрастромального рибофлавина. Последний, наряду с повышением фоточувствительности тканей, способен влиять на величину коorneальной УФ-абсорбции, оказывая защитный эффект для внутриглазных структур [2]. В свою очередь степень насыщения роговицы рибофлавином зависит от концентрации закапываемого раствора, продолжительности и частоты его инстилляций [3]. Кроме этого, на светопропускающую способность стромы в процессе УФ-сшивания роговицы может влиять также и пленка, образуемая на поверхности роговицы после инстилляций фотосенсибилизатора.

Цель исследования – оценить величину УФ-абсорбции роговицей, насыщенной растворами для ультрафиолетового кросслинкин-

га в присутствии прекорнеальной пленки рибофлавина.

Материал и методы

Эксперименты проводились *ex vivo* на 45 энуклеированных (не более 3 часов после изъятия) свиных глазах в 3-х группах (по 15 роговиц в каждой): в 1-й группе насыщение проводили 0,1% изотоническим раствором рибофлавина, во 2-й использовался 0,1% рибофлавин с 20% декстраном, в 3-й – 0,1% рибофлавин с 1,0% гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ). Дезэпителизацию производили на всей поверхности роговицы. Инстилляцией изотонического раствора рибофлавина производились из расчета 2 капли в минуту, растворов рибофлавина с декстраном и ГПМЦ – по 1 капле каждые 2 минуты. Для исследований в группах использовали роговицы толщиной $1,16 \pm 0,04$ мм, которая определялась в ее центральной зоне с помощью толщинометра EG-100 (Япония).

Величину УФ-абсорбции роговицей *ex vivo* оценивали по поглощению света от диодного УФ-облучателя с длиной волны 370 нм и мощностью 3 мВт/см², проходящего через изолированную роговицу (по разнице силы входящего и выходящего светового потока), размещенную на фотоприемном элементе устройства для определения мощности УФ-А-излучения УФ-тестер (Уф НИИ ГБ, Россия) (рис. 1). Показатели поглощения при УФ-облучении системы роговица – рибофлавин – прекорнеальная пленка (Р-Р-П) сравнивали с данными УФ-воздействия на систему роговица – рибофлавин (Р-Р).

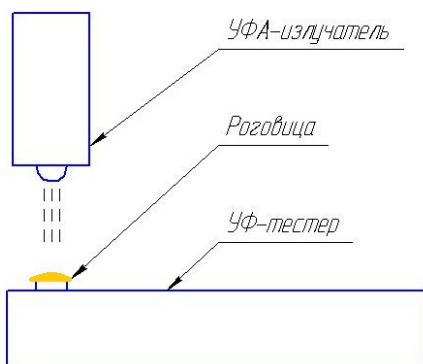


Рис. 1. Определение УФ-абсорбции роговицы (схема)

Статистическая обработка полученных данных была проведена с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Исходное УФ-излучение (3 мВт/см²) после абсорбции в слоях дезэпителизированной свиной роговицы (толщина 1,16 мм) без насыщения рибофлавином снизилось в среднем на 74% – до $0,79 \pm 0,09$ мВт/см² (рис. 2).

Рибофлавин в составе изотонического раствора активно проникал в строум роговицы, о чем свидетельствовало увеличение УФ-абсорбции системой Р-Р и, соответственно, падение мощности проходящего светового потока до $0,50 \pm 0,06$ мВт/см², а с учетом прекорнеальной пленки этот показатель снижался до $0,29 \pm 0,04$ мВт/см². Через 5 мин система Р-Р пропускала 0,21 мВт/см², а система Р-Р-П – 0,16 мВт/см², т.е. слой фотосенсибилизатора, образованный на корнеальной поверхности изотоническим раствором рибофлавина, задерживал ~ 20% энергии УФ излучения. В последующем по мере насыщения роговицы рибофлавином ее светопроводящая способность также снижалась. На 30-й минуте насыщения в 1-й группе ультрафиолетовая абсорбция системой Р-Р составила 96,3%, а системой Р-Р-П – 99% от значений интактной роговицы. Раствор рибофлавина с декстраном с 5-й минуты закапываний на роговицу и в течение всего срока наблюдений по своей способности задерживать ультрафиолет значительно уступал растворам, используемым в 1- и 3-й группах. Это может быть связано со снижением корнеальной толщины, обусловленной дегидрирующим действием полимера декстран, и, как следствие, с меньшей пене-трацией рибофлавина в слои роговицы [4]. Однако если сравнивать эффективность системы Р-Р-П 1- и 2-й групп, то светоабсорбирующая способность последней была выше: на 1-5-й минутах более чем в 2 раза, через 10-15 минут – на 25-33% (рис. 2). На 30-й минуте к сроку, который в условиях выполнения стандартного УФ-кросслинкинга соответствует началу этапа облучения, через роговицу, обработанную изотоническим рибофлавином, проникало $0,03 \pm 0,002$ мВт/см² ультрафиолета, а в группе с рибофлавином и декстраном – в 6 раз больше ($0,18 \pm 0,006$ мВт/см², $p < 0,05$). При этом система Р-Р-П во 2-й группе компенсировала эту существенную разницу, очевидно, за счет своей более устойчивой прекорнеальной пленки, образованной вязким полимером.

Инстилляцией раствора рибофлавина с ГПМЦ способствовали активному пропитыванию роговицы рибофлавином и увеличению ее УФ-абсорбирующих свойств. Во все сроки наблюдения, начиная с 5-й минуты, 3-я группа имела самую низкую светопропускающую способность как в системе Р-Р, так и Р-Р-П, а с 10-й минуты эксперимента проникновение ультрафиолета через роговицу прекращалось. Раствор рибофлавина с ГПМЦ так же, как и раствор с декстраном, создает стабильную

пленку на поверхности роговицы, причем в отличие от декстрана, полимер целлюлозы не влияет на корнеальную толщину.

Проводя экстраполяцию полученных результатов данного исследования на глаз человека, безусловно, необходимо учитывать разницу в состоянии окулярных тканей *ex vivo* и *in vivo*,

особенности толщины и строения роговой оболочки, но вместе с этим необходимо отметить, что общие закономерности процесса насыщения роговицы, ее способность к абсорбции ультрафиолета в условиях использования различных растворов для УФ-кросслинkingа в целом остаются неизменными.

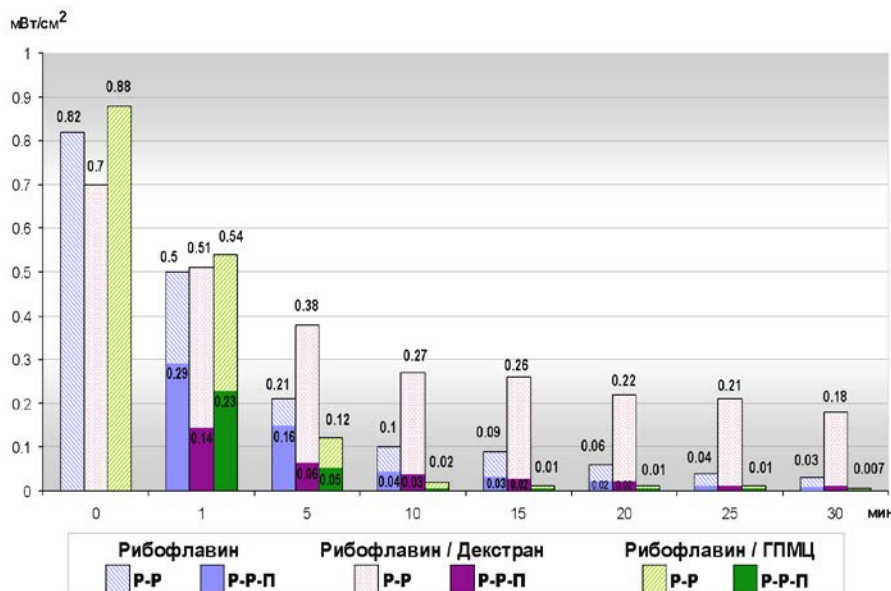


Рис. 2. Мощность УФ-излучения после абсорбции системами Р-Р (роговица – рибофлавин) и Р-Р-П (роговица – рибофлавин – прекорнеальная пленка) при насыщении роговицы растворами для УФ-кросслинkingа, мВт/см²

Настоящими исследованиями установлено, что значимым аспектом безопасности процедуры УФ-кросслинkingа роговицы является прекорнеальная пленка рибофлавина, стабильность которой определяется вязкостью раствора. Применение раствора рибофлавина с декстраном, обладающего выраженными противоотечными свойствами, может быть рекомендовано при стандартном сшивании роговицы толщиной не менее 400 мкм, тогда как раствор рибофлавина с ГПМЦ можно применять при более тонких роговицах. При этом рекомендуется придерживаться частоты инстилляций для изотонического раствора рибофлавина 2 капли в минуту для вязких растворов рибофлавина с декстраном и с ГПМЦ достаточно 1 капли в 2 минуты.

Таким образом, раствор 0,1% рибофлавина с 1,0% гидроксипропилметилцеллюлозой способствовал развитию выраженного УФ-абсорбирующего эффекта роговицы как посредством усиленного проникновения в строу, так и за счет стабильного поверхностного полимерно-рибофлавинового слоя. Средство с 0,1% рибофлавином и 20% декстраном ультрафиолетовую протекцию роговицы обеспечивало преимущественно за счет прекорнеальной пленки, тогда как 0,1% изотонический раствор рибофлавина, обладая хорошей пенетрацией, образовывал неустойчивый поверхностный слой фотосенсибилизатора, что требовало его более частых инстилляций.

Сведения об авторе статьи:

Халимов Азат Рашидович – к.б.н., зав. научным отделом ГБУ УфНИИ ГБ АН РБ. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Пушкина, 90. Тел./факс: 8(347) 273-29-52. E-mail: azrakhal@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wollensak, G. Riboflavin/ultraviolet-A induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus / G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 135, № 5. – P. 620-627.
2. Бикбов, М.М. Ультрафиолетовый кросслинking роговицы / М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов // *Вестник Российской академии медицинских наук.* – 2016. – Т. 71, № 3. – С. 224-232.
3. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking / G. Wollensak [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 114-120.
4. Уровень рибофлавина во влаге передней камеры глаза при использовании фотосенсибилизаторов на различной полимерной основе (экспериментальное исследование) / А.Р. Халимов [и др.] // *Вестник волгоградского гос. мед. университета.* – 2013. – Т. 4, № 48. – С. 195-198.