

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-48-57>



Лечение язв роговицы с помощью локального ультрафиолетового кросслинкинга (экспериментальное исследование)

В.В. Нероев¹, Е.В. Яни¹, Е.Н. Иомдина¹, И.П. Хорошилова-Маслова¹, В.А. Голикова¹ ✉, А.В. Кирюхин²

¹ ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

² Научно-технический центр АО «Елатомский приборный завод», ул. Высоковольтная, д. 48, корпус Б, Рязань, 390029, Россия

Цель работы — сравнительное клинико-морфологическое экспериментальное изучение эффективности лечения язв роговицы с помощью антибиотикотерапии и локального ультрафиолетового кросслинкинга с применением нового устройства «Кросскор». **Материал и методы.** Исследование выполнено на 15 кроликах (30 глаз) с моделью язвенного поражения роговицы, вызванного *Staphylococcus aureus*. Кролики были разделены на 3 группы по 5 особей (10 глаз): в 1-й группе локальный ультрафиолетовый А-диапазона (УФА) кросслинлинг (КЛ) роговицы проводился с помощью устройства «Кросскор» (3 процедуры по 5, 6 и 6 мин соответственно с интервалом в 3 дня); во 2-й группе КЛ сочетали с антибактериальным (АБ) лечением: 4 раза в сутки инстилляцией тобрамицина 0,3 % и мазь офлоксацин 3 мг/г в течение 14 дней. В контрольной группе применяли только АБ-лечение. Динамику воспаления, интенсивности помутнения и размера язвенного дефекта роговицы оценивали с помощью биомикроскопии, флюоресциновой пробы, фоторегистрации переднего отдела глаза и с использованием балльной системы. Морфологические изменения роговицы определяли с помощью световой микроскопии (Leica с цифровой камерой DFC 420 C). **Результаты.** В 1-й группе (КЛ) на 9-е сутки наблюдения отмечено полное заживление язвенного дефекта, во 2-й опытной группе (КЛ + АБ) его диаметр составил $1,6 \pm 0,5$ мм, в контрольной (АБ) — $1,9 \pm 0,3$ мм ($p < 0,05$). Суммарный балл оценки воспалительных изменений на 9-е сутки в 1-й группе — $0,8 \pm 1,3$, во 2-й — $3,6 \pm 0,8$, в группе контроля — $3,7 \pm 0,4$ ($p < 0,05$). В 1-й группе на 9-е сутки во всех случаях сформировалось легкое помутнение роговицы (0–1 балл); во 2-й группе и в группе контроля в 90 % случаев в проекции язвенного дефекта наблюдалось грубое помутнение роговицы с васкуляризацией (3 балла). Морфологическое изучение глаз показало, что только в 1-й группе формировались бессосудистые рубцы с упорядоченным расположением фибрилл фиброзной ткани. **Заключение.** Показана существенно более высокая эффективность лечения язв роговицы методом локального УФА КЛ, проведенного с помощью устройства «Кросскор», чем антибиотикотерапии.

Ключевые слова: язва роговицы; кросслинлинг; антибактериальная терапия; заживление; световая микроскопия; рубцовая ткань

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования: Нероев В.В., Яни Е.В., Иомдина Е.Н., Хорошилова-Маслова И.П., Голикова В.А., Кирюхин А.В. Лечение язв роговицы с помощью локального ультрафиолетового кросслинкинга (экспериментальное исследование). Российский офтальмологический журнал. 2020; 13 (4): 48–57. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-48-57>

Treatment of corneal ulcers by local ultraviolet crosslinking (an experimental study)

Vladimir V. Neroev¹, Elena V. Yani¹, Elena N. Iomdina¹, Inna P. Khoroshilova-Maslova¹, Viktoriya A. Golikova¹ ✉, Anton V. Kiryukhin²

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

² Research and Development Center of Yelatma Instrument Making Enterprise, JSC, building B, 48, Vysokovoltnaya St., Ryazan, 390029, Russia
viktorydeva@gmail.com

Purpose: to compare the effectiveness of corneal ulcer treatment by antibiotic therapy and local ultraviolet crosslinking in a clinical and morphological experimental study using the new Crosscor device. **Material and methods.** The study was performed on 15 rabbits (30 eyes) with a model of corneal ulceration caused by *Staphylococcus aureus*. Rabbits were divided into 3 groups of 5 specimens each (10 eyes). Group 1 received local ultraviolet A range (UVA) crosslinking (CL) of the cornea using the Crosscor device (3 procedures lasting 5, 6 and 6 minutes each were given with intervals of three days). In group 2, CL was combined with antibacterial treatment (AB): instillations of tobramycin 0.3 % and ofloxacin ointment 3 mg / g were given 4 times a day for 14 days. In the control group, only AB treatment was given. The dynamics of inflammation, the intensity of turbidity and the size of the corneal ulcer were evaluated using biomicroscopy, fluorescein test, photoregistration of the anterior part of the eye, and according to a point system. Morphological changes in the cornea were determined using light microscopy (Leica with a DFC 420C digital camera). **Results.** In group 1 (CL) complete healing of the ulcer defect was noted on the 9th day of observation; in group 2 (CL + AB), the diameter of the corneal ulcer was reduced to 1.6 ± 0.5 mm, in the control group (AB) it was reduced to 1.9 ± 0.3 mm ($p < 0.05$). The total score of inflammatory changes on day 9 in the 1st group was 0.8 ± 1.3 , in the 2nd group, 3.6 ± 0.8 , and in the control group, 3.7 ± 0.4 ($p < 0.05$). On day 9, in all cases of the 1st group, a slight clouding of the cornea was formed (0–1 point); in the 2nd group and in the control group in 90 % of cases a rough clouding of the cornea with vascularization was formed (3 points). Morphological examination of the eyes showed that only in the 1st group avascular scars with an ordered arrangement of fibrous tissue fibrils were formed. **Conclusion.** The data obtained indicate a significantly higher efficiency of corneal ulcer treatment by local UVA crosslinking using Crosscor as compared with antibiotic therapy.

Keywords: corneal ulcer; crosslinking; antibiotic therapy; healing; light microscopy; scar tissue

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Neroev V.V., Yani E.V., Iomdina E.N., Khoroshilova-Maslova I.P., Golikova V.A., A.V. Kiryukhin A.V. Treatment of corneal ulcers by local ultraviolet crosslinking (an experimental study). Russian Ophthalmological Journal. 2020; 13 (4): 48-57 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-48-57>

Проблема эффективного лечения бактериальных язв роговицы и регенерации роговичной ткани остается актуальной, несмотря на большой арсенал лекарственных препаратов антибактериального действия, как в России, так и за рубежом [1, 2].

Как известно, высокий процент неудовлетворительных исходов консервативного лечения бактериальных язв роговицы обусловлен главным образом трудностью выбора адекватной антибактериальной терапии или индивидуальной антибиотикорезистентностью пациента. В тех случаях, когда язвы роговицы длительно не реагируют на консервативную терапию, в последние годы предлагается использовать альтернативный метод лечения — кросслинкинг роговичного коллагена, который демонстрирует хорошие результаты [3, 4]. Роговичный кросслинкинг, разработанный G. Wollensak и соавт. [5] для лечения кератоконуса, в настоящее время занимает ведущее место среди нехирургических способов лечения кератэктазий различного генеза [6].

В последнее время показания к корнеальному кросслинkinгу расширяются. Этот подход применяется при эктазиях роговицы после эксимер-лазерной кераторефракционной хирургии [7], при буллезной кератопатии [8], а также язвенных поражениях роговицы, в том числе инфекционного характера [3, 9–11].

Кросслинкинг — полимеризация фибрилл стромы, увеличение количества интра- и интерфибриллярных ковалентных связей в коллагеновых структурах — происходит под влиянием фотодинамических реакций взаимодействия ультрафиолета А-диапазона (УФА) и раствора рибофлавина и, как следствие, кратковременного активного высвобождения свободных радикалов атомарного кислорода, стимулирующих поперечное сшивание коллагеновых структур. В результате лечебного фотохимического и фотофизического воздействия и образования поперечных швов строма уплотняется и становится прочнее, повышается ее протектитическая устойчивость и прозрачность [12–15]. Данная неинвазивная технология характеризуется безопасностью для глубже лежащих — внутренних структур глазного яблока: хрусталика, сетчатки и др., поскольку практически вся доза УФА поглощается рибофлавином в строме роговицы [16].

Установлено, что УФА и фотоактивированный рибофлавин обладают бактерицидным и бактериостатическим действием в отношении широкого спектра патогенных микроорганизмов, это послужило основанием для применения УФА-кросслинкинга при лечении кератитов бактериальной этиологии [17, 18].

Действительно, показано, что высокий индуцированный уровень оксидативного стресса — интенсивное

образование активных форм кислорода при УФА-кросслинkinге — необратимо разрушает ДНК и клеточные мембраны патогенных микроорганизмов, присутствующих в роговице, и останавливает их репликацию [19, 20]. Антимикробная эффективность УФА (365 нм) в комбинации с рибофлавином была выявлена *in vitro* в отношении бактерий и грибов, *Acanthamoeba* (цист и трофозоитов), а также *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* [20–26].

В 2013 г. О. Richotz и соавт. [27] в исследовании *in vitro* показали, что данная процедура уничтожает до 95 % патогенов роговицы. В связи с этим в последнее время появились публикации, описывающие успешное применение УФА-кросслинkinга для лечения язвенных поражений роговицы инфекционной этиологии [28].

Имеются также данные о том, что кросслинkinг роговичного коллагена подавляет воспалительные процессы и ноцицептивную активность роговичных нервов, за счет чего уменьшается боль и снижается риск васкуляризации роговицы [29]. В то же время считается, что кросслинkinг противопоказан при наличии в анамнезе заболевания, вызванного вирусом простого герпеса [30].

В настоящее время сообщают об эффективности лечения как бактериальных, так и грибковых и акантамбных кератитов с помощью ускоренного кросслинkinга — PASC-CXL (PhotoActivated Chromophore for infectious Keratitis), в котором фотоактивированный рибофлавин выступает в качестве дезинфицирующего средства, снижающего микробную нагрузку на поверхности и в передних слоях роговицы. В отличие от классического Дрезденского протокола лечения кератоконуса (мощность воздействия — 3,0 мВт/см², продолжительность — 30 мин), при PASC-CXL используется увеличенная мощность УФА-воздействия при более короткой его продолжительности: 18 мВт/см² в течение 5 мин, 30 мВт/см² в течение 3 мин или даже 36 мВт/см² в течение 2,5 мин. В некоторых работах показано, что эти режимы в комбинации с антибиотиками обеспечивают такое же лечебное действие, как и Дрезденский протокол [31–33]. Более того, К. Makdoui и соавт. [34] сообщили об успешном использовании PASC-CXL при бактериальном кератите без добавления антибиотикотерапии. Однако другие исследования, включавшие сравнительные клинические испытания PASC-CXL в сочетании с антимикробным лечением, показали такие же результаты, как и в группе контроля (только антимикробное лечение) в отношении времени заживления язв и корригированной остроты зрения [35–37]. В результате терапии бактериального кератита по протоколу PASC-CXL отмечен язвенный дефект большей ширины и длины, чем в группе антибактериальной терапии [35], а при глубоком грибковом кератите — более высокий риск перфорации роговицы [37]. В недавнем сообщении указывается, что при язвенном поражении роговицы средней тяжести PASC-CXL может использоваться без дополнительной антибиотикотерапии, однако период заживления язвенных дефектов при этом несколько длиннее (на 4 дня), чем при лечении только антибиотиками [38].

Противоречивые результаты, касающиеся эффективности и безопасности лечения с помощью PASC-CXL, пока ограничивают его широкое применение в клинической практике. Это в первую очередь объясняется неоднородностью проанализированных клинических выборок, включающих когорты больных с различными исходными особенностями, разными инфекционными возбудителями, различной длительностью течения и тяжестью заболевания, включая выраженность язвенного дефекта роговицы, а также отсут-

ствием единого протокола лечения и крупных убедительных рандомизированных контрольных исследований, что затрудняет обобщение и сопоставление полученных результатов.

Таким образом, в настоящее время нет единого мнения о наиболее адекватном протоколе лечения бактериальных язв роговицы с помощью коллагенового кросслинkinга [39, 40].

В России исследования подобного рода до сих пор не проводились, но имеются единичные экспериментальные и клинические данные об успешном использовании УФА-кросслинkinга роговицы при язвенных поражениях роговицы [41–43].

Вышесказанное позволяет заключить, что изучение возможности расширения сферы применения кросслинkinга для лечения различных патологий роговицы и разработка его алгоритмов, а также обоснование эффективных протоколов проведения данной лечебной процедуры, в том числе при кератитах различной этиологии, является актуальной научно-практической задачей.

Для решения этой задачи могут быть полезны сравнительные экспериментальные исследования с использованием модели заболевания на животных, позволяющие корректно и доказательно оценивать характер течения бактериальных язв роговицы, а также эффективность их лечения с применением УФА-кросслинkinга в исходно однородных рандомизированных группах (опытных и контрольных).

В доступной литературе мы нашли всего несколько экспериментальных работ, посвященных изучению *in vivo* эффективности УФА-кросслинkinга на моделях бактериального и грибкового кератита [44–48]. Экспериментальное моделирование акантамбного кератита на кроликах показало отсутствие лечебного эффекта УФА-кросслинkinга при этом возбудителе [49]. Однако ни в одном экспериментальном исследовании мы не нашли подробной комплексной клинкоморфологической оценки влияния УФА-кросслинkinга на состояние роговицы при кератите инфекционной этиологии, в том числе описания формирования рубцовой ткани, замещающей язвенный дефект.

Помимо такой оценки, в модельных экспериментах *in vivo* можно оценить также новые технические средства, позволяющие оптимизировать параметры УФА-воздействия и варьировать его режимы для выбора наиболее эффективного лечебного алгоритма.

Недавно в ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России совместно с Елатомским приборным заводом было разработано новое устройство для УФА-кросслинkinга роговицы («Кросскор») с техническими характеристиками излучения, соответствующими Дрезденскому протоколу (длина волны — 370 нм, мощность излучения — 3,0 мВт/см²), которое позволяет варьировать продолжительность и кратность его проведения, а также площадь зоны воздействия, поскольку снабжено специальными сменными насадками, предназначенными для ее формирования в зависимости от размера пораженного участка роговицы (патент РФ № 199825 от 22 сент. 2020, бюлл. №27). В отличие от существующего протокола проведения УФА-кросслинkinга при кератоконусе или при гнойной язве роговицы, согласно которому процедура проводится с помощью стационарной светодиодной установки в условиях операционной и предусматривает неподвижное горизонтальное положение пациента (положение лежа), а воздействие направлено в основном на центральную зону роговицы [5, 42, 43, 49, 50], разработанное портативное устройство позволяет в амбулаторных условиях в ручном режиме целенаправленно осуществлять кросслинkinг зоны язвенного поражения любой локализации в течение заданного периода времени (рис. 1, 2).



Рис. 1. Устройство для локального УФА-кросслинkinга роговицы («Кроскор») со сменными насадками-световодами, обеспечивающими формирование светового пятна различного диаметра, и блоком управления для регулирования и контроля продолжительности воздействия
Fig. 1. Crosscor, a device for local UVA corneal crosslinking, equipped with replacement lightguide tips which form a light spot of varied diameters and with a control unit to set and check the duration of UVA action

ЦЕЛЬ работы — сравнительное клиничко-морфологическое экспериментальное изучение эффективности лечения язв роговицы с помощью антибиотикотерапии и локального УФА-кросслинkinга с применением нового устройства «Кроскор».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование включало 15 кроликов (30 глаз) породы шиншилла весом до 3 кг. Каждому кролику на двух глазах была смоделирована бактериальная язва роговицы. Модель бактериальной язвы была ранее разработана в отделе инфекционных и аллергических заболеваний глаз НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца на основе известной модели бактериальной кератита [51].

В эксперименте использовался штамм *Staphylococcus aureus*. Всем экспериментальным животным под предварительной эпibuльбарной анестезией (инстилляцией в конъюнктивальную полость проксиметакаина 0,5 %) в оптической зоне выполняли послойную трепанацию роговицы трепаном диаметром 5 мм до 1/4 толщины стромы, роговицу отсепаарывали в меридиане с 9 до 3 ч и с 3 до 9 ч. В образовавшиеся карманы вносили по 2 стандартные петли чистой стафилококковой культуры. Через 24 ч развивалась классическая клиническая картина бактериальной язвы роговицы. Диаметр бактериального язвенного поражения был одинаковым у всех кроликов и составлял 4–5 мм (рис. 3). Экспериментальное лечение начинали через 24 ч после моделирования.

Местные антибактериальные препараты являются препаратами первой линии терапии бактериальной язвы роговицы, поэтому они были выбраны для лечения в экспериментальных группах с учетом чувствительности используемого стафилококка [52, 53]. Ранее нами была проведена сравнительная экспериментальная оценка эффективности различных схем консервативного лечения язвы роговицы с использованием такой же модели язвы роговицы у кролика



Рис. 2. Процедура УФА-кросслинkinга язвенного дефекта роговицы кролика с помощью устройства «Кроскор»
Fig. 2. UVA crosslinking procedure treating an ulcer defect of rabbit cornea using a Crosscor device



Рис. 3. Вид бактериальной язвы роговицы кролика через 24 ч после моделирования
Fig. 3. Bacterial corneal ulcer of a rabbit's eye 24 hours after modeling

[54]. Исследование в том числе включало подробное описание течения язвенного поражения в контрольной группе, в которой лечение не проводилось.

Полученные данные были использованы в настоящей работе в качестве базовых критериев, в связи с этим экспериментальные животные были разделены на 3 группы лечения (две опытные и одну контрольную) по 5 особей (10 глаз) в каждой группе. В группе контроля использовали только антибактериальное лечение (АБ): 4 раза в сутки антибиотик из группы аминогликозидов в каплях — Тобрамицин 0,3 % и 4 раза в сутки антибиотик из группы фторхинолонов — мазь Офлоксацин 3 мг/г в течение 14 дней. В 1-й опытной группе применяли только кросслинkinг роговицы (УФА + рибофлавин) с помощью устройства «Кроскор», во 2-й опытной группе дополнительно к кросслинkinгу (УФА + рибофлавин) применяли такое же антибактериальное лечение, как и в контрольной группе: 4 раза в сутки антибиотик из группы аминогликозидов в каплях — Тобрамицин 0,3 % и 4 раза в сутки антибиотик из группы фторхинолонов — мазь Офлоксацин 3 мг/г в течение 14 дней.

Для проведения УФА-кросслинkinга «Кроскор» использовали в следующих режимах: в соответствии с размером язвы для первой процедуры была выбрана насадка световода диаметром 6 мм и предустановлена продолжительность воздействия в 5 мин, для второй процедуры, которая была

проведена через 3 дня после первой, была выбрана насадка световода диаметром 6 мм и предустановлена продолжительность 6 мин, через 3 дня была проведена заключительная, третья процедура, для которой в связи с сокротившейся площадью язвенного поражения была выбрана насадка меньшего диаметра — 4 мм и предустановлена продолжительность 6 мин. Перед проведением кросслинkinга (за 30 мин до его начала) и в течение самой процедуры каждые 1–2 мин проводили инстилляцию 0,1 % рибофлавина с декстраном (декстралинк).

Клиническую картину и динамику течения заболевания оценивали с помощью биомикроскопии, флюоресцеиновой пробы, фоторегистрации переднего отдела глаза.

Для оценки воспалительных изменений нами была разработана количественная балльная система. Общая оценка воспалительного процесса в переднем отделе глаза рассчитывалась по сумме баллов (максимальный суммарный балл — 11) (табл. 1).

Следует отметить, что выздоровлением мы считали полное исчезновение симптомов воспаления — 0 баллов.

Осмотр проводили ежедневно, балльную оценку состояния глаза проводили на 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 и 14-е сутки. В ходе клинического наблюдения отдельно оценивали язвенный дефект.

Интенсивность помутнения роговицы в исходе, а также степень ее васкуляризации в исходе (на 14-й день наблюдения) также оценивали по шкале в баллах (табл. 2).

Оценку структурных изменений тканей глаз проводили путем патогистологического исследования. После вывода животных на 14-й день из эксперимента глаза энуклеировали,

фиксируют в 10 % растворе забуференного формалина и подвергали стандартной гистологической обработке. Морфологическое исследование проводили с помощью микроскопической системы Leica при увеличении 100–600. Захват и анализ изображений проводили с помощью встроенной цифровой видеокамеры Leica DFC 420 C.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с целью работы были проанализированы результаты как клинических, так и морфологических исследований.

Результаты клинических исследований. Динамика размеров язвенного дефекта роговицы в 3 обследованных группах глаз представлена в таблице 3.

Приведенные в таблице 3 данные свидетельствуют о достоверном и практически одинаковом уменьшении диаметра язвенного дефекта по сравнению с исходным уровнем во всех группах в первые трое суток ($p < 0,05$, сравнение по U-критерию Mann — Whitney), но затем заживление язвенного дефекта в 1-й опытной группе стало происходить быстрее, чем в группе контроля и во 2-й опытной группе. В итоге на 9-е сутки средний диаметр язвенного дефекта в контрольной группе составил $1,9 \pm 0,3$ мм, в 1-й опытной — 0 мм (полное заживление), во 2-й опытной группе — $1,6 \pm 0,5$ мм. Полное заживление язвы в группе контроля отмечено только на 14-е сутки наблюдения, при этом во 2-й опытной группе к этому сроку минимальный язвенный дефект еще сохранялся (средний диаметр составил $0,6 \pm 0,8$ мм). Такая динамика свидетельствует о достоверно более ранней эпителизации язвенного дефекта в 1-й группе экспериментального лечения с применением нового портативного устройства для локального УФА-кросслинkinга роговицы («Кросскор») по сравнению с контролем (АБ) и 2-й опытной группой (УФА-кросслинkinг + АБ).

В таблице 4 приведены данные о динамике воспалительного процесса в переднем отделе глаза, которые свидетельствуют о достоверном снижении общей воспалительной реакции в 1-й и 2-й опытных группах, начиная с 3 сут, в контрольной группе — с 5 сут ($p < 0,05$, сравнение проведено по U-критерию Mann — Whitney).

Воспалительные изменения переднего отдела глаза на 9-е сутки в контрольной группе соответствовали $3,7 \pm 0,4$ балла, в 1-й опытной группе — $0,8 \pm 1,3$ балла, во 2-й опытной группе — $3,6 \pm 0,8$ балла, что свидетельствует о достоверно более высокой эффективности проводимого лечения в 1-й опытной группе (рис. 4, А–В).

Балльную оценку полученных в ходе эксперимента данных, касающихся степени помутнения и васкуляризации

Таблица 1. Шкала оценки воспалительных изменений переднего отдела

Table 1. Assessment scale of inflammatory eye changes

Симптом Symptom	Оценка, баллы Evaluation, score
Раздражение глаза: отек век, инъекция, отделяемое Eye irritation: eyelid edema, injection, discharge	0 — нет, нет отделяемого 1 — легкой степени, нет отделяемого 2 — средней степени, скудное отделяемое 3 — ярко выражено, есть отделяемое 0 — no, no discharge 1 — light degree, no discharge 2 — medium degree, slight discharge 3 — pronounced, with discharge
Уvealные явления Uveal syndromes	0 — нет 1 — опалесценция (клетки во влаге ПК) 2 — фибрин в ПК и/или отек радужки 3 — гипопион в ПК, выраженная отечность радужки 0 — no 1 — opalescence (cells in AC humor) 2 — fibrin in AC and/or iris swelling 3 — hypopyon in AC, pronounced swelling the iris
Диаметр язвенного дефекта Diameter of the ulcer defect	0 — нет 1 — 1 мм 2 — 2 мм 3 — 3 мм 4 — 4 мм 5 — 5 мм 0 — no 1 — 1 mm 2 — 2 mm 3 — 3 mm 4 — 4 mm 5 — 5 mm
Максимальный суммарный балл = 11 Maximum total score = 11	

Таблица 2. Шкала оценки интенсивности помутнения роговицы в исходе

Table 2. Scale for assessing the intensity of corneal opacity in the outcome

Симптом Symptom	Оценка, баллы Evaluation, score
Интенсивность помутнения роговицы в исходе, степень васкуляризации в исходе The intensity of corneal opacity, the degree of vascularization in the outcome	0 — незначительное, отсутствие сосудов 1 — легкой степени, отсутствие сосудов 2 — средней степени выраженности, сосуды до 3 мм от лимба 3 — грубое помутнение, сосуды до 5 мм от лимба 0 — insignificant, no blood vessels 1 — mild degree, no blood vessels 2 — medium severity, vessels up to 3 mm from the limbus 3 — rough clouding, vessels up to 5 mm from the limbus

Таблица 3. Динамика изменений диаметра язвенного дефекта в эксперименте
Table 3. The dynamics of the ulcer diameter changes in the experiment

Сутки лечения Days of treatment	Диаметр язвенного дефекта, мм (M ± m) Corneal ulcer diameter, mm (M ± m)		
	контрольная группа control group n = 10	1-я группа (УФА-кросслинкинг) 1 group (UVA crosslinking) n = 10	2-я группа (УФА-кросслинкинг + АБ) 2 group (UVA crosslinking + AB) n = 10
1	4,5 ± 0,4	4,2 ± 0,3	4,3 ± 0,2
2	4,2 ± 0,4	4,0 ± 0,0	4,0 ± 0,0
3	3,6 ± 0,6	3,2 ± 0,4	3,4 ± 0,4
5	3,8 ± 0,4	1,8 ± 0,4*	2,0 ± 0,2*
7	2,8 ± 0,4	0,2 ± 0,4*	2,0 ± 0,4*
9	1,9 ± 0,3	0*	1,6 ± 0,5*
11	0,9 ± 0,3	0*	1,4 ± 0,5*
14	0	0	0,6 ± 0,8*

Примечание. n — количество глаз, * — различие с группой контроля достоверно, p < 0,05 (сравнение проведено по U-критерию Mann — Whitney).

Note. n — eye number, * — difference with control group is significant, p < 0.05 (comparison by U-criterion Mann — Whitney).

Таблица 4. Динамика воспалительного процесса в эксперименте
Table 4. The dynamics of the inflammatory process in the experiment

Сутки лечения Days of treatment	Суммарный балл оценки воспалительного процесса в переднем отделе глаза (M ± m) The total score of inflammatory process in the anterior segment of the eye (M ± m)		
	контрольная группа control group n = 10	1-я группа (УФА-кросслинкинг) 1 group (UVA crosslinking) n = 10	2-я группа (УФА-кросслинкинг + АБ) 2 group (UVA crosslinking + AB) n = 10
1	10,1 ± 0,7	8,8 ± 0,8	8,6 ± 1,1
2	9,7 ± 0,9	8,0 ± 0,7	8,0 ± 0,7
3	8,9 ± 1,1	6,8 ± 1,3	6,8 ± 1,3
5	8,1 ± 0,7	4,2 ± 1,6*	5,2 ± 1,0
7	6 ± 0,4	2 ± 1,7*	4,4 ± 1,1
9	3,7 ± 0,4	0,8 ± 1,3*	3,6 ± 0,8
11	1,0 ± 0,6	0,4 ± 0,8	2,8 ± 1,4
14	0	0,4 ± 0,8	1,8 ± 1,6

Примечание. n — количество глаз, * — различие с группой контроля достоверно, p < 0,05 (сравнение проведено по U-критерию Mann — Whitney).

Note. n — number of eyes, * — difference with control group is significant, p < 0.05 (comparison by U-criterion Mann — Whitney).



Рис. 4. Состояние экспериментальных глаз на 9-е сутки лечения. А — контрольная группа: сохраняется язвенный дефект роговицы, формируется ее грубое помутнение с васкуляризацией (по шкале помутнения — 3 балла). Б — 1-я опытная группа: сформировано помутнение роговицы легкой степени (по шкале интенсивности помутнения — 1 балл). В — 2-я опытная группа: определяется проминирующий формирующийся рубец роговицы с язвенным дефектом на поверхности (по шкале помутнения — 3 балла)

Fig. 4. The condition of experimental eyes on the 9th day of treatment. А — Control group: the cornea with an ulcer defect, a gross opacity with vascularization is formed (3 points on the scale of clouding). Б — 1st experimental group: a mild opacity is formed on the cornea (1 point on the scale of corneal opacity). В — 2nd experimental group: on the cornea a prominent scar with an ulcer defect on the surface (3 points on the scale of corneal opacity) is seen

в исходе, производили согласно приведенной выше шкале (табл. 2). Обнаружено, что в 1-й опытной группе на 9-е сутки во всех случаях сформировалось лишь легкое помутнение, оцениваемое по шкале в 0–1 балл. Во 2-й опытной группе и в группе контроля в 90 % случаев на 9-е сутки в проекции

язвенного дефекта наблюдалось грубое помутнение роговицы с васкуляризацией, которое соответствовало 3 баллам.

Эти данные также свидетельствуют о достоверно более высокой эффективности локального УФА-кросслинкинга по сравнению с другими видами лечения язв роговицы,

которые применялись в данном экспериментальном исследовании.

Полученные клинические результаты были сопоставлены с данными морфологического изучения энуклеированных глаз опытных групп и группы контроля.

Результаты морфологических исследований. Световая микроскопия роговицы глаз *контрольной группы* позволила выявить следующую морфологическую картину. На 14-е сутки наблюдения эпителий роговицы — неравномерный, истонченный в центре рубца и утолщенный на периферии. Под ним грубая рубцовая ткань из разнонаправленных волокон с новообразованными сосудами, с очагами некротических изменений. Сохраняется инфильтрация глубоких слоев роговицы клеточными элементами. Эндотелий сохранен (рис. 5, А—В).

Морфологическая картина роговицы глаз *1-й опытной группы (УФА-кросслинкинг)* на том же сроке наблюдения (14-е сутки) существенно отличается от группы контроля. В центре роговицы имеется рубец из новообразованной фиброзной ткани, покрытый тонким эпителием, в котором сохраняется лишь тенденция к десквамации. В части образцов толщина новообразованной рубцовой ткани по периферии язвенного дефекта больше, чем в центре. В отличие от группы контроля (АБ-терапия), после УФА-кросслинкинга наблюдается достаточно упорядоченное расположение фибрилл в рубце с небольшой разрыхленностью новообразованной ткани. Воспалительные элементы единичны. В некоторых образцах наблюдается фрагмент клеточной инфильтрации и участки гомогенизированной ткани под новообразованной рубцовой тканью и в рубце. Выявляется обилие новообразованных кератоцитов. Визуализируется новообразованная рубцовая ткань с относительно упорядоченным расположением волокон. В зоне, окружающей язвенный дефект, отмечаются некротические изменения (рис. 6, А—Г).

Морфологическая картина роговицы глаз *2-й опытной группы (УФА-кросслинкинг + АБ)* на 14-е сутки наблюдения характеризуется определенными отличиями от 1-й опытной группы, коррелирующими с клиническими особенностями течения язвенного кератита в этой группе. В новообразованной рубцовой ткани в зоне язвенного дефекта визуализируются отечные разволокненные фибриллы, единичные

сосуды. Отмечается обилие кератоцитов в строме роговицы и отек роговичных пластин.

Для более детального описания процесса заживления язвенного дефекта после проведенного локального кросслинкинга необходимы дальнейшие углубленные морфологические исследования на ранних и поздних стадиях течения инфекционного кератита.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные клинические результаты показали, что 3 процедуры локального кросслинкинга с помощью устройства «Кросскор» общей продолжительностью 17 мин (5, 6 и 6 мин), проведенные в течение одной недели, позволили к 9-му дню наблюдения купировать воспалительный процесс и достичь эпителизации язвенного дефекта роговицы у всех кроликов 1-й опытной группы. Такой результат был получен при использовании параметров УФА-воздействия (длина волны — 370 нм, мощность излучения — 3,0 мВт/см²), соответствующих общепринятому в клинической практике Дрезденскому протоколу, безопасность которого полностью доказана. Стоит отметить, что согласно Дрезденскому протоколу, процедура кросслинкинга при кератоконусе длится значительно дольше — 30 мин. Такую же продолжительность УФА использовали ранее и при лечении гнойного кератита в рамках Дрезденского протокола. Ускоренный протокол РАСК-СХЛ предусматривает существенно более высокую мощность УФА-воздействия при более короткой его продолжительности: 18 мВт/см² в течение 5 мин или даже 36 мВт/см² в течение 2,5 мин, однако, как было отмечено выше, сведения о клинической эффективности и безопасности этого протокола для лечения бактериальных кератитов пока разнородны и недостаточно убедительны. В связи с этим его применение в клинике в настоящее время ограничено.

Сравнивая гистологические и клинические особенности течения экспериментального язвенного кератита в нашем исследовании, можно отметить следующее. Заживление язвенного дефекта к 14-му дню во всех группах, как после местного лечения только АБ-препаратами (группа контроля), так и локального УФА-кросслинкинга роговицы с помощью устройства «Кросскор» и комбинированного лечения (АБ-терапия в сочетании с локальным УФА-кросслинкин-

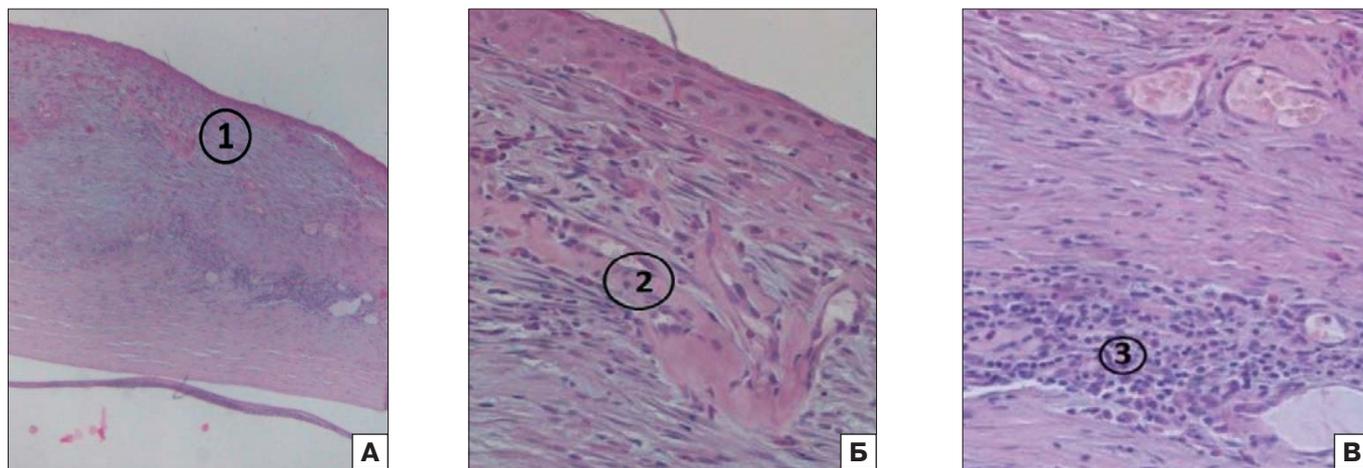


Рис. 5. Группа контроля (местное антибактериальное лечение), срок наблюдения — 14 дней. А — грубая рубцовая ткань, замещающая язвенный дефект (1). Б — очаги новообразованных сосудов (2). В — инфильтрация глубоких слоев роговицы под зоной рубцующегося язвенного дефекта клеточными элементами (3). Окраска гематоксилин-эозином (Н & Е), А — $\times 100$, Б, В — $\times 200$

Fig. 5. Control group (local antibacterial treatment), observation period — 14 days. А — foci of newly formed vessels (2). В — cells elements infiltrate into the deep layers of the cornea under the scarring ulcer (3). Hematoxylin-eosin (H & E), А — $\times 100$, Б, В — $\times 200$

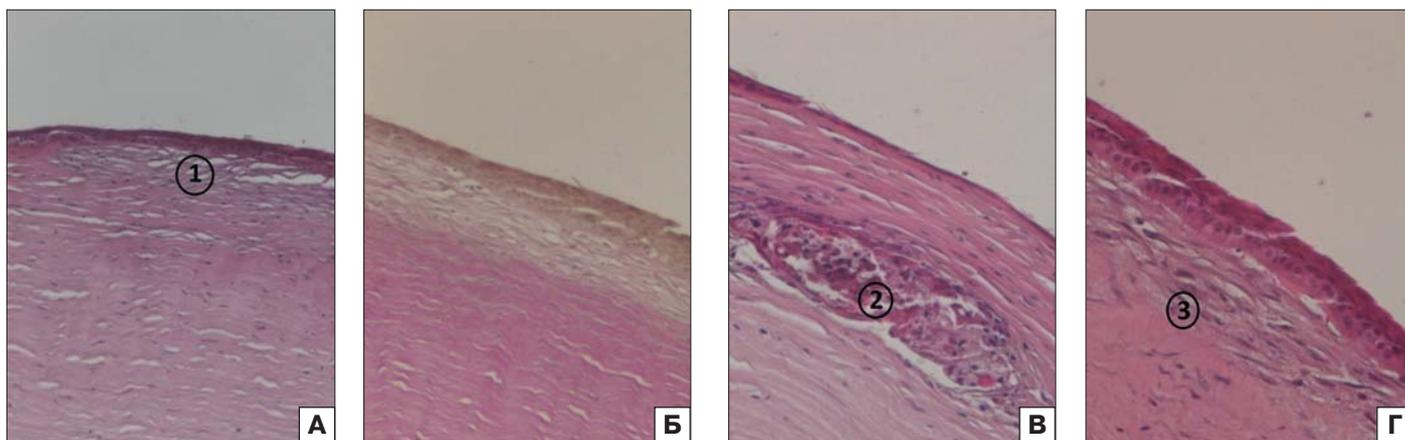


Рис. 6. 1-я опытная группа (УФА-кросслинking), срок наблюдения — 14 дней. А, Б — новообразованная рубцовая ткань с упорядоченным расположением фибрилл, замещающая язвенный дефект (1). В — фрагмент клеточной инфильтрации (2). Г — обилие кератоцитов (3). Окраска гематоксилин-эозином (H & E), А, В, Г — $\times 200$; окраска по Ван Гизону, Б — $\times 200$

Fig. 6. 1st group (UVA Crosslinking), observation period — 14 days. А, Б — the ulcer defect is replaced by newly formed scar tissue with an ordered fibril arrangement (1). В — a fragment of cellular infiltration (2). Г — abundant keratocytes (3). Hematoxilin — eosin (H & E), А, В, Г — $\times 200$; Van Giezon, Б — $\times 200$

гом), характеризуется формированием помутнения роговицы различной интенсивности, гистологически определяющимся в виде фиброзной ткани, замещающей язвенный дефект.

При этом легкое остаточное помутнение роговицы в 1-й опытной группе коррелирует с существенно более упорядоченным строением постязвенного рубца, чем в других экспериментальных глазах. Так, впервые проведенная нами морфологическая идентификация постязвенных рубцов показала разницу в структуре рубцовой ткани, сформированной под влиянием УФА-кросслинkingа и без него. Различие заключалось в формировании бессосудистых рубцов с мономорфным волокнистым строением фиброзной ткани только в 1-й опытной группе, что в оптическом отношении является очевидным преимуществом. Эти результаты коррелируют с клиническими данными, согласно которым существенно лучшие результаты лечения экспериментальной язвы роговицы были получены именно в 1-й опытной группе.

Во 2-й опытной группе клиническая и гистологическая картина может быть обусловлена воспалительной реакцией, вероятно, вызванной антигенами, поступающими из мазевой формы АБ-препарата. Это дает основание предположить, что УФА-кросслинking в комбинации с АБ лекарственной терапией может быть эффективным в лечении бактериальных язв роговицы, только если антибиотики применяются не в мазевой форме или при условии соблюдения временного интервала между их применением и процедурой кросслинkingа. В экспериментальном исследовании язвенного кератита, индуцированного *Staphylococcus aureus*, К. Тап и соавт. [44] УФА-кросслинking также дал лучший результат, чем сочетание УФА-кросслинkingа с комплексным АБ лечением, компонентом которого был 5 % хлорамфеникол в виде мази. Однако данное предположение требует дальнейшей проверки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показали высокую эффективность локального УФА-кросслинkingа в лечении бактериальных язв роговицы, вызванных *Staphylococcus aureus*. Три процедуры, проведенные с помощью нового устройства «Кросскор» с интервалом в 3 дня в течение одной недели общей продолжительностью 17 мин (5, 6 и 6 мин соответственно), позволили достаточно быстро (на 9-е сутки) купировать воспалительный процесс и достичь эпителизации язвенного

дефекта роговицы, при этом в исходе воспаления отмечалось только легкое помутнение роговицы, в то время как при антибиотикотерапии в 90 % случаев в проекции язвенного дефекта наблюдалось грубое помутнение с васкуляризацией. Впервые проведенное сравнительное морфологическое изучение постязвенных рубцов, образовавшихся после УФА-кросслинkingа и после антибиотикотерапии, показало, что только после кросслинkingа сформировались бессосудистые рубцы роговицы с упорядоченным расположением фибрилл и мономорфным волокнистым строением новообразованной фиброзной ткани, что имеет большое значение для поддержания прозрачности роговицы. Углубленные морфологические исследования процесса заживления язвенного дефекта на ранних и поздних стадиях течения инфекционного кератита после локального кросслинkingа будут обязательно продолжены. Однако полученные в представленной работе результаты свидетельствуют о безусловной перспективности использования локального УФА-кросслинkingа для лечения инфекционного кератита бактериального генеза.

Литература/References

1. *Oladigbolu K., Rafindadi A., Abah E., Samaila E.* Corneal ulcers in a tertiary hospital in Northern Nigeria. *Ann Afr Med.* 2013 Jul-Sep; 12 (3): 165–70. doi: 10.4103/1596-3519.117626
2. *Al Mahmoud T., Elhanan M., Elshamsy M.H., Alshamsi H.N., Abu-Zidan F.M.* Management of infective corneal ulcers in a high-income developing country. *Medicine (Baltimore).* 2019 Dec; 98 (51):e18243. doi: 10.1097/MD.00000000000018243
3. *Alio J.L., Abbouda A., Valle D., et al.* Corneal crosslinking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. *J. Ophthalmic Inflamm. Infect.* 2013; 3: 47. doi: 10.1186/1869-5760-3-47
4. *Нероев В.В., Петухова А.Б., Данилова Д.Ю., Селиверстова К.Е., Гундорова П.А.* Кросслинking роговичного коллагена в лечении трофических и бактериальных язв роговицы. *Российский медицинский журнал.* 2013; 2: 25–8. [Neroev V.V., Petukhova A.B., Danilova D.Yu., Seliverstova K.E., Gundorova P.A. The cross-linking of corneal collagen in treatment of trophic and bacterial ulcers of cornea. *Russian medical journal.* 2013; 2: 25–8 (in Russian)].
5. *Wollensak G., Sporn E., Seiler T.* Treatment of keratoconus by collagen cross linking. *J. Ophthalmology.* 2003; 100 (1): 44–9. doi: 10.1007/s00347-002-0700-3
6. *Gomes J.A., Rapuano C.J., Belin M.W., Ambrosio R.Jr.* Global consensus on keratoconus and ectatic diseases. *Cornea.* 2015; 34 (4): 359–69. doi: 10.1097/ICO.0000000000000408
7. *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. Cataract. Refract. Surg.* 2007; 33 (12): 2035–40. PMID: 18053900
8. *Kozobolis V., Labiris G., Gkika M.* UV-A collagen cross-linking treatment of

- bullous keratopathy combined with corneal ulcer. *Cornea*, 2010; 29 (2): 235–8. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181a81802
9. Pot S.A., Gallhöfer N.S., Matheis F.L., et al. Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: results of a prospective, nonrandomized, controlled trial. *Vet. Ophthalmol.* 2014; 17: 250–60. doi: 10.1111/vop.12090
 10. Tabibian D., Richoz O., Riat A., Schrenzel J., Hafezi F. Accelerated photoactivated chromophore for keratitis–corneal collagen cross-linking as a first-line and sole treatment in early fungal keratitis. *J. Refract. Surg.* 2014; 30 (12): 855–7. doi: 10.3928/1081597X-20141113-06
 11. Wollensak G., Mortensen J.C. Infectious keratitis treated with corneal crosslinking. *Cornea*, 2010; 29 (12): 1353–8. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181d2de91
 12. Бикбов М.М., Халимов А.Р., Усубов Э.Л. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы. Вестник российской академии медицинских наук. 2016; 71 (3): 224–32. doi: 10.15690/vramn562 [Bikbov M.M., Khalimov A.R., Usubov E.L. Ultraviolet corneal crosslinking. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2016; 71 (3): 224–32 (In Russian). doi: 10.15690/vramn562https://doi.org/10.15690/vramn562]
 13. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2006; 17: 356–60. doi:10.1097/01.icu.0000233954.86723.25
 14. Иомдина Е.Н. Биомеханические аспекты кератрефракционной хирургии и корнеального кроссликинга. Российская педиатрическая офтальмология. 2015; 4: 32–7. [Iomdina E.N. The biomechanical aspects of keratorefractive surgery and corneal cross-linking. *Russian pediatric ophthalmology.* 2015; 4: 32–7 (in Russian)].
 15. Spoerl E., Wollensak G., Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr. Eye Res.* 2004; 29: 35–40.
 16. Wollensak G., Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking. *Acta Ophthalmologica Scandinavica.* 2009; 87 (1): 48–51. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01190.x
 17. Makdoui K., Mortensen J., Sorkhabi O., Malmvall B.E., Crafoord S. UVA-Riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 250: 95–102. doi: 10.1007/s00417-011-1754-1
 18. Makdoui K., Bäckman A., Mortensen J., Crafoord S. Evaluation of antibacterial efficacy of photo-activated riboflavin using ultraviolet light (UVA). *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2010; 248: 207–12. doi: 10.1007/s00417-009-1231-2
 19. Makdoui K., Bäckman A. Photodynamic UVA-riboflavin bacterial elimination in antibiotic resistant bacteria. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2016; 44 (7 Sep.): 582–6. doi: 10.1111/ceo.12723
 20. Martins S.A., Combs J.C., Noguera G., et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008; 49: 3402–8. doi: 10.1167/iovs.07-1592
 21. Schrier A., Greebel G., Atlla H., et al. In vitro antimicrobial efficacy of riboflavin and ultraviolet light on *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Refract. Surg.* 2009; 25: S799–S802. doi: 10.3928/1081597X-20090813-07
 22. Lamy R., Chan E., Good S.D., et al. Riboflavin and ultraviolet-A as adjuvant treatment against *Acanthamoeba* cysts. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 2015. doi: 10.1111/ceo.12644
 23. Del Buey M.A., Cristóbal J.A., Casas P., et al. Evaluation of in vitro efficacy of combined riboflavin and ultraviolet A for *Acanthamoeba* isolates. *Am. J. Ophthalmol.* 2012; 153: 399–404. doi: 10.1016/j.ajo.2011.07.025
 24. Letsch J., Abou-Bacrar A., Candolfi E. Evaluation of in vitro efficacy of combined riboflavin and ultraviolet-A (365 nm) for *Acanthamoeba*. *J. Fr. Ophthalmol.* 2015; 38: 213–9. doi: 10.1016/j.jfo.2014.09.013
 25. Makdoui K., Backman A., Mortensen J., et al. Comparison of UVA- and UVA/riboflavin-induced growth inhibition of *Acanthamoeba castellanii*. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2013 Feb; 251 (2): 509–14. doi: 10.1007/s00417-012-2176-4
 26. Kashiwabuchi R.T., Carvalho F.R.S., Khan Y.A., et al. Assessing efficacy of combined riboflavin and UV-A light (365 nm) treatment of *Acanthamoeba* trophozoites. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011; 52: 9333–8. doi: 10.1167/iovs.11-8382
 27. Richtot O., Gatziofous Z., Hafezi F. Corneal collagen cross-linking for the treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Cornea*. 2013; 32 (10): 189. doi: 10.1097/ICO.0b013e31829a689e
 28. Lim L., Lim E.W. A review of corneal collagen cross-linking — current trends in practice applications. *Open Ophthalmol. J.* 2018 Jul 23; 12: 181–213. doi: 10.2174/1874364101812010181
 29. Bertollo C.M., Oliveira A.C., Rocha L.T. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of riboflavin in different experimental models. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 547: 184–91.
 30. Price M.O., Tenkman L.R., Schrier A., et al. Photoactivated riboflavin treatment of infectious keratitis using collagen cross-linking technology. *J. Refract. Surg.* 2012; 28 (10): 706–13. doi:10.3928/1081597X-20120921-06
 31. Richoz O., Kling S., Hoogewoud F., et al. Antibacterial efficacy of accelerated photoactivated chromophore for keratitis–corneal collagen cross-linking (PACK-CXL). *J. Refract. Surg.* 2014; 30: 850–4. doi: 10.3928/1081597X-20141118-01
 32. Hafezi F., Randleman J.B. PACK-CXL: defining CXL for infectious keratitis. *J. Refract. Surg.* 2014; 30: 438–9. doi: 10.3928/1081597X-20140609-01
 33. Knyazer B., Krakauer Y., Baumfeld Y., et al. Accelerated PACK-CXL for moderate therapy-resistant infectious keratitis. *Cornea*. 2018; 37: 528–31. doi: 10.1097/ICO.0000000000001498
 34. Makdoui K., Mortensen J., Sorkhabi O., Malmvall B.E., Crafoord S. UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: A pilot study. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 250 (1): 95–102. http://dx.doi.org/10.1007/s00417-011-1754-1 [PMID: 21874347]
 35. Said D.G., Elalfy M.S., Gatziofous Z., et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology.* 2014; 121 (7): 1377–82. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.01.011
 36. Vajpayee R.B., Shafi S.N., Maharana P.K., Sharma N., Jhanji V. Evaluation of corneal collagen cross-linking as an additional therapy in mycotic keratitis. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 2015; 43 (2): 103–7. http://dx.doi.org/10.1111/ceo.12399
 37. Uddaraju M., Mascarenhas J., Das M.R., et al. Corneal crosslinking as an adjuvant therapy in the management of recalcitrant deep stromal fungal keratitis: A randomized trial. *Am. J. Ophthalmol.* 2015; 160 (1): 131–4 e5. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2015.03.024
 38. Torres-Netto E., Abrishamchi R., Shetty R., et al. Corneal cross-linking for the treatment of infectious keratitis: multicenter trial results. In: Abstracts of 24th European Society of Cataract and Refractive Surgeons. Marrakech, Morocco. 2020. https://www.esrcs.org/marrakech2020/Programme/free-papers-details.asp?id=35223&day=0
 39. Papaioannou L., Miligkos M., Papathanassiou M. Corneal collagen cross-linking for infectious keratitis: a systematic review and meta-analysis. *Cornea*. 2016 Jan; 35 (1): 62–71. doi: 10.1097/ICO.0000000000000644
 40. Chan T.C., Lau T.W., Lee J.W., et al. Corneal collagen cross-linking for infectious keratitis: an update of clinical studies. *Acta Ophthalmol.* 2015 Dec; 93 (8): 689–96. doi: 10.1111/aos.1275
 41. Иомдина Е.Н., Сотникова Л.Ф., Гончарова А.В. и др. Применение ультрафиолетового корнеального кроссликинга при язвах роговицы и других кератопатиях у животных. Российский офтальмологический журнал. 2019; 12 (3): 51–7. https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-3-51-57 [Iomdina E.N., Sotnikova L.F., Goncharova A.V., et al. Using ultraviolet corneal crosslinking for the treatment of corneal ulcers and other corneal pathologies in animals. *Russian ophthalmological journal.* 2019; 12 (3): 51–7 (In Russian). https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-3-51-57]
 42. Ченцова Е.В., Веруго Е.Н., Макаров П.В., Хазамова А.И. Кросслинкинг в комплексном лечении язв роговицы и трансплантата. Российский офтальмологический журнал. 2017; 10 (3): 93–100. https://doi.org/10.21516/2072-0076-2017-10-3-93-100 [Chentsova E.V., Verigo E.N., Makarov P.V., Khazamova A.I. Crosslinking in the complex treatment of corneal ulceration and corneal grafting. *Russian ophthalmological journal.* 2017; 10 (3): 93–100 (In Russian). https://doi.org/10.21516/2072-0076-2017-10-3-93-100]
 43. Каспарова Евг. А., Ян Бяо, Собкова О.И. Модифицированный кросслинкинг в лечении гнойной язвы роговицы. Клинический случай. Офтальмология. 2017; 14 (3): 274–7. doi: 10.18008/1816-5095-2017-3-274-277 [Kasparova E.A., Byao I., Sobkova O.I. Modified cross-linking in the treatment of advanced purulent corneal ulcer. *Clinical case. Ophthalmology in Russia.* 2017; 14 (3): 274–7 (In Russian). https://doi.org/10.18008/1816-5095-2017-3-274-277]
 44. Tal K., Gal-Or O., Pillar S., et al. Efficacy of primary collagen cross-linking with photoactivated chromophore (PACK-CXL) for the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced corneal ulcers. *Cornea*. 2015; 34: 1281–6. doi: 10.1097/ICO.0000000000000550
 45. Cosar C.B., Kucuk M., Celik E., et al. Microbiologic, pharmacokinetic, and clinical effects of corneal collagen cross-linking on experimentally induced *Pseudomonas* keratitis in rabbits. *Cornea*. 2015 Oct; 34 (10): 1276–80. doi: 10.1097/ICO.0000000000000516
 46. Zhu Z., Zhang H., Yue J., et al. Antimicrobial efficacy of corneal cross-linking in vitro and in vivo for *Fusarium solani*: a potential new treatment for fungal keratitis. *BMC Ophthalmol.* 2018 Mar 2; 18 (1): 65. doi: 10.1186/s12886-018-0727-0
 47. Galperin G., Berra M., Tau J., et al. Treatment of fungal keratitis from *Fusarium* infection by corneal cross-linking. *Cornea*. 2012 Feb; 31 (2): 176–80. doi: 10.1097/ICO.0b013e318221cec7
 48. Berra M., Galperin G., Boscaro G., et al. Treatment of *Acanthamoeba* keratitis by corneal cross-linking. *Cornea*. 2013 Feb; 32 (2): 174–8. doi: 10.1097/ICO.0b013e31825cea99
 49. Shufang Wei, Cuiying Zhang, Shaoru Zhang, Yanyun Xu, Guoying Mu. Treatment results of corneal collagen cross-linking combined with riboflavin and 440 Nm

- blue light for bacterial corneal ulcer in rabbits. *Current Eye Research*. 2017; 42 (10): 1401–6. doi:10.1080/02713683.2017.1332767
50. *Kasparov A.A., Kasparova E.A., Sobkova O.I., Янг Бяо, Оганесян А.С.* Способ лечения гнойной язвы роговицы. Патент РФ 2635454. [*Kasparov A.A., Kasparova E.A., Sobkova O.I., Young Biao, Oganesyanyan A.S.* Method for treatment of the purulent corneal ulcers. Patent RU 2635454 (in Russian)].
51. *Бикбов М.М., Никитин Н.А., Суркова В.К., Зайнуллина Н.Б.* Способ моделирования бактериального кератита. Патент РФ 2480845. [*Bikbov M.M., Nikitin N.A., Surkova V.K., Zaynullina N.B.* Method of modeling bacterial keratitis. Patent RU, N 2480845 (in Russian)].
52. *Schmack I., Müller M., Kohnen T.* Microbial keratitis: understand, recognize, and treat — Part I: general aspects and characteristics of bacterial keratitis. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 2018; 235 (3): 331–50. doi: 10.1055/s-0044-101286
53. *Lietman A.A., Rose-Nussbaumer J.* Update on the management of infectious keratitis. *Ophthalmology*. 2017 Nov; 124 (11): 1678–89. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.05.012
54. *Нероев В.В., Яни Е.В., Голикова В.А., Позднякова В.В.* Оценка схем консервативного лечения бактериальных язв роговицы с применением глюкокортикостероидного препарата в эксперименте. *Российский офтальмологический журнал*. 2020; 13 (2): 71–7. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-2-71-77> [*Neroev V.V., Yani E.V., Golikova V.A., Pozdnyakova V.V.* Experimental evaluation of bacterial corneal ulcer treatment plans using glucocorticosteroid. *Russian ophthalmological journal*. 2020; 13 (2): 71–7 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-2-71-77>]

Вклад авторов в работу: В.В. Нероев — концепция и дизайн исследования, одобрение окончательной версии статьи; Е.В. Яни — концепция структуры исследования, написание текста статьи, анализ результатов исследования; Е.Н. Иомдина — концепция структуры исследования, написание текста статьи, анализ результатов исследования, окончательное редактирование текста статьи; И.П. Хорошилова-Маслова — проведение морфологических исследований, анализ и интерпретация данных, написание и коррекция текста статьи; В.А. Голикова — сбор экспериментального материала, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи; А.В. Кирюхин — обеспечение технических условий проведения исследования.

Authors' contribution: V.V. Neroev — conceptualisation and design of the research, final approve of the article; E.V. Yani — conceptualization of study structure, writing the article and results analysis; E.N. Iomdina — conceptualization of the study structure, writing the paper, analysis of the study results, final editing; I.P. Khoroshilova-Maslova — performing the morphological study, data analysis and interpretation, writing and editing the article; V.A. Golikova — collecting the experimental data, analysis and interpretation, writing the article; A.V. Kiryukhin — technical support of the study.

Поступила: 21.05.2020

Переработана: 28.05.2020

Принята к печати: 29.05.2020

Originally received: 21.05.2020

Final revision: 28.05.2020

Accepted: 29.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Владимир Владимирович Нероев — академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор

Елена Владимировна Яни — канд. мед. наук, руководитель отдела инфекционных и аллергических заболеваний глаз

Елена Наумовна Иомдина — д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела патологии рефракции, бинокулярного зрения и офтальмоэргономики

Инна Петровна Хорошилова-Маслова — д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела патологической анатомии и гистологии глаза

Виктория Алексеевна Голикова — аспирант отдела инфекционных и аллергических заболеваний глаз

Научно-технический центр АО «Елатомский приборный завод», ул. Высоковольтная, д. 48, корпус Б, Рязань, 390029, Россия

Антон Викторович Кирюхин — инженер

Для контактов: Виктория Алексеевна Голикова, viktorydeva@gmail.com

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

Vladimir V. Neroev — Academician of RAS, Dr. of Med. Sci., professor, director

Elena V. Yani — Cand. of Med. Sci., department of infectious and allergic eye diseases, head

Elena N. Iomdina — Dr. of Biol. Sci., professor principal researcher department of refraction pathology, binocular vision and ophthalmology ergonomics

Inna P. Khoroshilova-Maslova — Dr. of Med. Sci., professor, department of the eye pathologic anatomy and histology, head

Viktorija A. Golikova — PhD student, department of infectious and allergic eye diseases

Research and Development Center of Yelatma Instrument Making Enterprise, JSC, building B, 48, Vysokovoltynaya St., Ryazan, 390029, Russia

Anton V. Kiryukhin — engineer

Contact information: Viktorija A. Golikova, viktorydeva@gmail.com