

Д.П. Скачков, А.Л. Штилерман, С.С. Целуйко

КРОССЛИНКИНГ РОГОВИЧНОГО КОЛЛАГЕНА*Амурская государственная медицинская академия,
675000, ул. Горького, 95, тел. 8-(4162)-52-08-28, г. Благовещенск***Резюме**

В настоящее время наряду с хирургическими технологиями активно внедряются новые методики лечения патологии роговицы. Одним из таких методов является метод роговичного коллагенового кросслинкинга, который представляет собой фотополимеризацию стромальных волокон и образование стабильных химических связей, возникающих в результате комбинированного воздействия фотосенсибилизирующего вещества (рибофлавина) и ультрафиолетового света. В результате фотополимеризации образуются новые дополнительные внутри- и межфибрилярные связи, что изменяет прочность и устойчивость ткани роговицы.

Ключевые слова: кросслинкинг, коллаген, роговица.

D.P. Skachkov, A.L. Shtilerman, S.S. Tseluyko

CORNEAL COLLAGEN CROSSLINKING*Amur State Medical Academy, Blagoveshensk***Summary**

Currently, along with surgical techniques surgeons actively introduce new methods of treatment of corneal pathologies. One of such method is corneal collagen cross-linking, which is a photopolymerization of stromal fibers and the formation of stable chemical bonds resulting from the combined effects of a photosensitizing substance (riboflavin) and ultraviolet light. As a result, new photopolymerization additional intra-and interfibrillar connection forms. It changes the strength and stability of the corneal tissue.

Key words: cross-linking, collagen, cornea.

Кросслинкинг – образование химических связей между белками и другими крупными молекулами, которые, как правило, делают материал сильнее и устойчивее к распаду. В кросслинкинге роговичного коллагена используется фотоокислительная реакция, возникающая при взаимодействии фоточувствительного рибофлавина и ультрафиолетового излучения с длиной волны 370 нм [1].

В 1983 году S. Ono и H. Hirano описали наличие рибофлавина в хрусталике. H.M. Jerigan, et al. (1981) показали значение фотоокислительного влияния рибофлавина на хрусталик и его роль в катарактогенезе и уплотнении хрусталиковых белков. В 1992 году P.J. Miln и R. G. Zika, исследуя различные фотосенсибилизаторы, продемонстрировали высокую эффективность рибофлавина в сочетании со светом длиной волны более 300 нм. В 2003 году G. Wollensak, et al. достигли прорыва в клиническом применении кросслинкинга в лечении прогрессирующего кератоконуса с использованием рибофлавина и UVA. Авторы с помощью электронной микроскопии подтвердили факт «склеивания» фибрилл, утолщения коллагеновых волокон в роговице под воздействием рибофлавина и ультрафиолетового излучения, что привело к повышению биомеханической устойчивости ткани [4, 5, 25, 26].

В человеческой роговице коллагеновые волокна ориентированы преимущественно горизонтально и вертикально (под углом 90° и 180°), параллельно друг другу и поверхности роговицы, что определяет ее кривизну и прозрачность [7, 13]. Подобная закономерность имеет место на большей части роговицы,

за исключением полосы шириной 2 мм вдоль лимба. Коллагеновые волокна, идущие от лимба до лимба, связаны между собой в передне-заднем направлении с помощью матричных белков (протеогликанов и др.), а также коллагена 4-го типа, являющегося своеобразным «мостом» между коллагеновыми фибриллами 1-го типа [6, 17]. Кератоциты благодаря наличию отростков, также участвуют в образовании поперечных связей, взаимодействуя друг с другом и коллагеновыми фибриллами. Известно, что биомеханические свойства роговицы зависят от состояния волокон коллагена, межколлагеновых связей их структурной организации и могут меняться при различных патологических процессах [9, 10, 11].

В кросслинкинге роговичного коллагена используется фотоокислительная реакция, возникающая при взаимодействии фоточувствительного рибофлавина и ультрафиолетового излучения с длиной волны 370 нм, являющейся пиковой для абсорбции рибофлавина [8].

Длина волны в 370 нм была выбрана в связи с высокой эффективностью получения эффекта кросслинкинга и максимальной безопасностью для сетчатки. При кросслинкинге возникают фотохимические реакции, которые дифференцируются в зависимости от наличия кислорода на реакции 1-го типа – анаэробные и 2-го типа – аэробные. При кросслинкинге роговичного коллагена фотосенсибилизатор – рибофлавин, поглощая энергию UVA, превращается в, так называемое, триплетное состояние. При 1-м типе фотохимической реакции триплетный рибофлавин взаимодействует непосредственно с белками коллагена. А в ходе реак-

ции 2-го типа триплет рибофлавин взаимодействует с основной молекулой кислорода, образуя синглетный кислород, или супероксид-анион. Эти формы кислорода реагируют с различными молекулами, вызывая химические ковалентные связи между молекулами коллагена и, возможно, протеогликанами [27, 28, 29, 30].

До внедрения нового метода в клиническую практику было проведено большое количество экспериментальных работ, доказавших его безопасность и эффективность [20, 24].

В экспериментах было доказано значительное повышение устойчивости ткани роговицы кроликов к механическому воздействию после процедуры кросслинkinга. В другой серии работ в результате экспериментально индуцированного кросслинkinга роговичного коллагена ригидность человеческой роговицы возросла приблизительно на 300 %, роговицы свиней – на 75 %. Повышение биомеханической ригидности ткани авторы связывают с фактом «склеивания» фибрилл и увеличения толщины коллагеновых волокон [14, 15, 18, 31].

Экспериментальные исследования подтвердили двукратное повышение устойчивости роговицы после комбинированного воздействия рибофлавина и ультрафиолетового излучения к действию ферментов: пепсина, трипсина и коллагеназы. Стабилизирующий биохимический эффект кросслинkinга может быть объяснен изменением третичной структуры коллагеновых фибрилл и блокированием специфических участков, взаимодействующих с ферментами. Данный факт объясняет эффективность метода в лечении язвы роговицы, а также частично обуславливает остановку прогрессирования кератоконуса, в патогенезе которого также играет роль повышенная активность коллагеназы [29, 30, 31].

Помимо биомеханического и биохимического эффекта, процедура кросслинkinга роговичного коллагена ведет к формированию повышенной устойчивости роговицы к термическому воздействию [21]. Денатурация коллагена с разрушением ковалентных связей между молекулами в роговицах, подвергшихся комбинированному воздействию UVA и рибофлавина, происходила при более высокой температуре, чем в контроле [23].

Во всех проведенных исследованиях эффект кросслинkinга оказался максимальным в передних отделах стромы толщиной не более 300 мкм [15]. Это связано с высокой степенью абсорбции излучения в присутствии рибофлавина и поглощением до 95 % излучения на уровне передних и средних слоев стромы. Данный факт объясняет преимущественно переднюю локализацию зоны утолщения коллагеновых волокон, асимметрию между передними и задними отделами стромы относительно устойчивости к ферментному, механическому и термическому воздействию, а также обуславливает минимальную степень воздействия ультрафиолетового излучения на эндотелий роговицы, хрусталик и другие структуры глаза [2, 26, 28,].

Для подтверждения безопасности процедуры была проведена дополнительная серия экспериментальных работ. Специфический цитотоксический эффект на эндотелий роговицы отмечался при интенсивности

ультрафиолетового излучения на уровне эндотелия 0,65 Дж/см² (0,36 МВт/см²), что вдвое превышает мощность при терапевтических параметрах излучения (0,32 Дж/см; 0,18 МВт/см²). Зная коэффициент абсорбции излучения в ткани человеческой роговицы в присутствии рибофлавина, было рассчитано, что при стандартной терапевтической мощности излучения (3 МВт/см²) на поверхности роговицы толщиной более 400 мкм, энергия на уровне глубоких слоев роговицы безопасна для эндотелия. Однако в случаях язвы роговицы, разбитого кератоконуса с выраженным истончением роговицы стандартная доза воздействия оказывается токсичной для эндотелиальных клеток. В таких случаях рекомендуется использовать альтернативные способы лечения или снижать мощность излучения. Однако, по мнению исследователей, у пациентов с кератоконусом и локальным истончением роговицы на ограниченном участке возможно использование стандартных доз излучения, так как локальная потеря эндотелиальных клеток компенсируется путем миграции с соседних участков [16, 19, 25].

С помощью конфокальной биомикроскопии было выявлено разрежение кератоцитов в передних отделах стромы роговицы, что свидетельствует об их апоптозе и последующем некрозе под воздействием ультрафиолетового излучения заданной мощности. Степень гибели кератоцитов зависела от интенсивности ультрафиолетового излучения. При стандартных терапевтических дозах облучения в роговице человека гибель кератоцитов отмечалась в пределах передних отделов стромы толщиной около 300 мкм. Постепенное восстановление популяции клеток происходило в течение 3 месяцев за счет миграции из зоны неповрежденной роговицы [15].

Кроме того, в первые дни после процедуры было обнаружено исчезновение субэпителиальных нервов. Однако полная реиннервация роговицы с восстановлением ее чувствительности отмечалась уже через 1 месяц [14].

Ни в одном эксперименте не было выявлено помутнения роговицы, хрусталика или признаков воспалительной реакции в глазах животных после комбинированного воздействия рибофлавина и ультрафиолетового облучения [30].

Стандартная методика кросслинkinга роговичного коллагена выполняется амбулаторно в операционной, под местной анестезией с раствором оксибупрокаина 0,4 %. [1]. Шпателем удаляется роговичный эпителий на необходимой площади в зависимости от офтальмопатологии. Начиная с 10 минут до облучения и каждые 5 минут во время процедуры закапывают 0,1 % раствор рибофлавина. UVA облучение проводят с 1 см (или больше в зависимости от точки фокусировки, от используемого прибора) в течении 30 минут с использованием диодов UVA с длиной волны 370 нм и мощностью 3 мВт/см². Пучок излучения должен быть четко сфокусирован для исключения повреждения области лимба. Инстиляция раствора рибофлавина с последующим воздействием UVA излучения повторяют 5 раз (общее время экспозиции 25 минут, время всей процедуры 30 минут), после чего роговицу промывают физиологическим раствором, закапывают антибиотик,

нестероидный противовоспалительный препарат и надевают мягкую контактную линзу. В послеоперационном периоде больному назначают местно антибактериальные и противовоспалительные препараты. После завершения эпителизации в среднем на 5-е сутки снимают МКЛ и назначают инстилляции кортикостероидов и антибиотиков в течение 20 дней [1, 4, 25].

На ряду с традиционной техникой выполнения кросслинкинга роговичного коллагена существует ряд вариаций данного метода: трансэпителиальное облучение роговицы, формирование интрастромальных карманов с использованием фемтолазера, введением в них рибофлавина с последующим UVA-облучением, методика «штриховой» неполной дезэпителизации, удаление эпителия с помощью 20 % спирта. Все эти методики в силу объективных причин не нашли широкого применения в офтальмологии [12, 16, 19, 22].

К настоящему времени в мировой практике накоплен достаточно большой опыт клинического применения метода кросслинкинга роговичного коллагена, подтверждающий эффективность и безопасность процедуры для приостановления прогрессирования кератоконуса и повышения остроты зрения.

Единственным побочным эффектом процедуры, по данным ряда авторов, явился кратковременный отек ткани роговицы. Данный эффект отмечался приблизительно в 40 % случаев, сопровождаясь транзитным повышением среднего сферического коэффициента рефракции [3, 16].

В течение всего периода наблюдения за пролеченными пациентами не было отмечено изменения прозрачности роговицы и хрусталика, плотности эндотелиальных клеток, изменений внутриглазного давления, поражения сетчатки по данным оптической когерентной томографии. В большинстве случаев не потребовалось проведения повторных процедур [20, 26].

Таким образом, многочисленные экспериментальные и клинические исследования показали эффективность и безопасность процедуры рибофлавин-UVA-индуцированного кросслинкинга роговичного

коллагена для лечения прогрессирующего кератоконуса. Снижение показателей офтальмометрии, горизонтальной комы, повышение симметричности и ригидности роговицы свидетельствуют об улучшении оптических свойств роговиц пациентов и приостановлении патологического процесса [19].

В большинстве случаев процедура кросслинкинга роговичного коллагена приводила к повышению переносимости контактных линз и улучшению качества жизни пациентов [1, 3].

Другие возможные сферы клинического применения процедуры кросслинкинга роговичного коллагена касаются профилактики регрессии миопии и развития ятрогенной кератэктазии после рефракционной хирургии. Имеются сообщения об успешном использовании процедуры кросслинкинга у пациентов с ятрогенной кератэктазией после операции ЛАСИК. С помощью данной методики удалось повысить биомеханическую прочность роговицы и остановить прогрессирование данного осложнения [12].

В последнее время появились сообщения об успешном использовании метода в клинике при лечении больных с язвой роговицы. Не исключено, что кросслинкинг склерального коллагена станет эффективной методикой повышения ригидности склеры с целью лечения прогрессирующей миопии [4].

На ряду с показаниями к выполнению кросслинкинга имеются и противопоказания: стабильная форма кератэктазии (увеличение данных кератометрии $\leq 1,0$ Д в течении 12 месяцев), развитая, далекозашедшая стадия кератоконуса с рубцеванием, толщина роговицы ≤ 400 мкм, герпетический кератит в анамнезе, синдром «сухого глаза», повышение ВГД ≥ 21 мм рт. ст. [1].

Таким образом, кросслинкинг роговичного коллагена является технически несложным, относительно дешевым, перспективным и гораздо менее инвазивным способом лечения кератоконуса, ятрогенной кератэктазии, эндотелиально-эпителиальной дистрофии и некоторых других патологических состояний роговицы, чем традиционные хирургические методы.

Литература

1. Бикбова Г.М., Бикбов М.М. Терапевтический потенциал кросслинкинга и лечение буллезной кератопатии // Офтальмохирургия. – 2009. – № 2. – С. 7-8.
2. Бикбов М.М., Бикбова Г.М., Хабибуллин А.Ф. Применение кросслинкинга роговичного коллагена в лечении буллезной кератопатии // Офтальмохирургия. – 2011. – № 1. – С. 12-13.
3. Мороз З.И., Ковшун Е.В., Горохова М.В. Кератопластика с использованием кросслинкинг-модифицированного донорского материала при фистуле роговицы // Офтальмохирургия. – 2012. – № 4. – С. 11-12.
4. Brian S., Boxer W. Corneal Collagen Crosslinking with Riboflavin // Cataract and Refract. Surg. Today, Jan. – 2005. – P. 73-74.
5. Caporossi A., Baiocchi S., Mazzotta C., Traversi C. Parasurgical Therapy of Keratoconus by Riboflavin-UVA-Induced Crosslinking of Corneal Collagen: Preliminary Refractive Results in Italian Study // Curr. Eye Res. – 2003. – № 22. – P. 231-234.
6. Cheng E.L., Maruyama I., Sundar Raj N., Sugar J., Feder R.S., Yue B.Y.J.T. Expression of Type XII Collagen and Hemidesmosome-associated Proteins in Keratoconus Corneas // Curr. Eye Res. – 2001. – № 23. – P. 333-340.
7. Doxer A., Misof K., Grabner B., Etti A., Fratzl P. Collagen Fibrils in the Human Corneal Stroma: Structure and Aging // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1998. – Vol. 39. – P. 644-648.
8. Fujimori E. Cross-linking and Fluorescence Changes of Collagen by Glycation and Oxidation // Biochimica et Biophysica Acta, 998 (1989). – P. 105-110.
9. Kaufman H.E. Strengthening the Cornea // Cornea. – 2004. – Vol. 23, № 5. – P. 432.
10. Kenney M.C., Nesburn A.B., Burgeson R.E., Butkowski R.J., Ljubimov A.V. Abnormalities of the Extracel-

- lular Matrix in Keratoconus Corneas // *Cornea*. – 1997. – № 16 (3). – P. 345-351.
11. Khadern J., Truong T., Ernest J.T. Photodynamic Biologic Tissue Glue // *Cornea*. – 1994. – Vol. 13. – P. 406-410.
 12. 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. – Vol. 222 (5). – P. 430-436.
 13. Meek K.M., Tuft S.J., Huang Y., et al. Changes in Collagen Orientation and Distribution in Keratoconus Corneas // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005. – Vol. 46, № 6, – P. 1948-1956.
 14. Menter J.M., Patta A.M., Sayre R.M., Dowdy J., Willis I. Effect of UV Irradiation on Tipe I Collagen Fibril Formation in Neural Collagen Solutions // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2001. – Vol. 17. – P. 114-120.
 15. Muller L.J., Pels E., Vrensen G.F. The Specific Architecture of the Anterior Stroma Accounts for Maintenance of Corneal Curvature // *Br. J. Ophthalmol.* – 2001. – Vol. 85. – P. 437-443.
 16. Rabinowitz Y.S. Major Review Keratoconus // *Surv. Ophthalmol.*, Jan-Feb 1998. – Vol. 42, № 4. – P. 297-319.
 17. Radner W., Zehemayer M., Skorpik Ch., Mallinger R. Altered Organization of Collagen in Apex of Keratoconus Corneas // *Ophthalmic. Res.* 1998. – Vol. 30. – P. 327-332.
 18. Scroggs M.W., Proia A.D. Histopathological Variation in Keratoconus // *Cornea*. – 1992. – Vol. 11. – P. 553-559.
 19. Seiler T., Huhle S., Spoerl E., Kunath H. Manifest Diabetes and Keratoconus: a Retrospective Case-Control Study // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 238. – P. 822-825.
 20. Spoerl E., Schreiber J., Hellmund K., Seiler T., Knuschke P. Crosslinking Effects in the Cornea of Rabbits // *Ophthalmologie*. – 2000. – Vol. 97. – P. 203-206.
 21. Spoerl E., Wollensak G., Dittert D., Seiler T. Thermomechanical Behavior of Collagen-Cross-Linked Porcine Cornea // *Ophthalmologica*. – 2004. – Vol. 218. – P. 136-140.
 22. Spoerl E., Wollensak G., Seiler T. Increased Resistance of Crosslinked Cornea against Enzymatic Digestion // *Curr. Eye Res.* – 2004. – Vol. 29. – P. 35-40.
 23. Tuori A.J., Virtanen I., Aine E., Kalluri R., Miner J.H., Uusitalo H.M. The Immunohistochemical Composition of Corneal Basement membrane in Keratoconus // *Curr. Eye Res.* – 1997. – Vol. 16. – P. 792-801.
 24. Wilson S.E., Kim W.G. Keratocyte Apoptosis: Implication on Corneal Wound Healing, Tissue Organization and Disease // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1998. – Vol. 39. – P. 220-226.
 25. Wollensak G., Spoerl E., Seiler Th. Riboflavin/Ultraviolet-A Induced Collagen Crosslinking for the Treatment of Keratoconus // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 135. – P. 620-627.
 26. Wollensak G., Spoerl E., Seiler Th. Stress Strain Measurements of Human and Porcine Corneas after Riboflavin / Ultraviolet-A Induced Crosslinking // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2003. – Vol. 29. – P. 1780-1785.
 27. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Behandlung von Keratokonus Durch Kollagenvernetzung // *Ophthalmologie*. – 2003. – Vol. 100. – P. 44-49.
 28. Wollensak G., Spoerl E., Wilsh M., Seiler Th. Endothelial Cell Damage after Riboflavin-Ultraviolet-A Treatment in the Rabbit // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2003. – Vol. 29. – P. 1786-1790.
 29. Wollensak G., Spoerl E., Wilsch M., Seiler Th. Keratocyte Apoptosis after Corneal Collagen Crosslinking Using Riboflavin / UVA Treatment // *Cornea*. – 2004. – Vol. 23. – P. 43-49.
 30. Wollensak G., Wilsch M., Spoerl E., Seiler T. Collagen Fiber Diameter in the Rabbit Cornea after Collagen Crosslinking by Riboflavin / UVA // *Cornea*. – 2004. – Vol. 23. – P. 503-507.
 31. Zaldaway R.M., Wagner J., Ching S., Seigel G.M. Evidence of Apoptotic Cell Death in Keratoconus // *Cornea*. – 2002. – Vol. 21. – P. 206-209.

Literature

1. Bikbova G.M., Bikbov M.M. Therapeutic potential of crosslinking and treatment of bullous keratopathy // *Ophthalmic Surgery*. – 2009. – № 2. – P. 7-8.
2. Bikbov M.M., Bikbova G.M., Khabibullin A.F. Use of crosslinking of corneal collagen in the treatment of bullous keratopathy // *Ophthalmic Surgery*. – 2011. – № 1. – P. 12-13.
3. Moroz Z.I., Kovshun E.V., Gorokhova M.V. Corneal grafting using crosslinking-modified donor material the treatment of corneal fistula // *Ophthalmic Surgery*. – 2012. – № 4. – P. 11-12.
4. Brian S. Boxer Wachler. Corneal Collagen Crosslinking with Riboflavin // *Cataract and Refract. Surg. Today*. – 2005. – P. 73-74.
5. Caporossi A., Baiocchi S., Mazzotta C., Traversi C. Parasurgical Therapy of Keratoconus by Riboflavin-UVA-Induced Crosslinking of Corneal Collagen: Preliminary Refractive Results in Italian Study // *Curr. Eye Res.* – 2003. – № 22. – P. 231-234.
6. Cheng E.L., Maruyama I., Sundar Raj N., Sugar J., Feder R.S., Yue B.Y.J.T. Expression of Type XII Collagen and Hemidesmosome-associated Proteins in Keratoconus Corneas // *Curr. Eye Res.* – 2001. – № 23. – P. 333-340.
7. Doxer A., Misof K., Grabner B., Etti A., Fratzi P. Collagen Fibrils in the Human Corneal Stroma: Structure and Aging // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1998. – Vol. 39. – P. 644-648.
8. Fujimori E. Cross-linking and Fluorescence Changes of Collagen by Glycation and Oxidation // *Biochimica et Biophysica Acta*, 998 (1989). – P. 105-110.
9. Kaufman H.E. Strengthening the Cornea // *Cornea*. – 2004. – Vol. 23, № 5. – P. 432.
10. Kenney M.C., Nesburn A.B., Burgeson R.E., Butkowski R.J., Ljubimov A.V. Abnormalities of the Extracellular Matrix in Keratoconus Corneas // *Cornea*. – 1997. – № 16 (3). – P. 345-351.
11. Khadern J., Truong T., Ernest J.T. Photodynamic Biologic Tissue Glue // *Cornea*. – 1994. – Vol. 13. – P. 406-410.

12. 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. – Vol. 222 (5). – P. 430-436.
13. Meek K.M., Tuft S.J., Huang Y., et al. Changes in Collagen Orientation and Distribution in Keratoconus Corneas // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2005. – Vol. 46, № 6. – P. 1948-1956.
14. Menter J.M., Patta A.M., Sayre R.M., Dowdy J., Willis I. Effect of UV Irradiation on Type I Collagen Fibril Formation in Neural Collagen Solutions // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2001. – Vol. 17. – P. 114-120.
15. Muller L.J., Pels E., Vrensen G.F. The Specific Architecture of the Anterior Stroma Accounts for Maintenance of Corneal Curvature // *Br. J. Ophthalmol.* 2001. – Vol. 85. – P. 437-443.
16. Rabinowitz Y.S. Major Review Keratoconus // *Surv. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 42, № 4. – P. 297-319.
17. Radner W., Zehemayer M., Skorpik Ch., Mallinger R. Altered Organization of Collagen in Apex of Keratoconus Corneas // *Ophthalmic Res.* – 1998. – Vol. 30. – P. 327-332.
18. Scroggs M.W., Proia A.D. Histopathological Variation in Keratoconus // *Cornea.* – 1992. – Vol. 11. – P. 553-559.
19. Seiler T., Huhle S., Spoerl E., Kunath H. Manifest Diabetes and Keratoconus: a Retrospective Case-Control Study // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2000. – Vol. 238. – P. 822-825.
20. Spoerl E., Schreiber J., Hellmund K., Seiler T., Knuschke P. Crosslinking Effects in the Cornea of Rabbits // *Ophthalmology.* – 2000. – Vol. 97. – P. 203-206.
21. Spoerl E., Wollensak G., Dittert D., Seiler T. Thermomechanical Behavior of Collagen-Cross-Linked Porcine Cornea // *Ophthalmologica.* – 2004. – Vol. 218. – P. 136-140.
22. Spoerl E., Wollensak G., Seiler T. Increased Resistance of Crosslinked Cornea against Enzymatic Digestion // *Current Eye Research.* – 2004. – Vol. 29. – P. 35-40.
23. Tuori A.J., Virtanen I., Aine E., Kalluri R., Miner J.H., Uusitalo H.M. The Immunohistochemical Composition of Corneal Basement membrane in Keratoconus // *Curr. Eye Res.* – 1997. – Vol. 16. – P. 792-801.
24. Wilson S.E., Kim W.G. Keratocyte Apoptosis: Implication on Corneal Wound Healing, Tissue Organization and Disease // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1998. – Vol. 39. – P. 220-226.
25. Wollensak G., Spoerl E., Seiler Th. Riboflavin/Ultraviolet-A Induced Collagen Crosslinking for the Treatment of Keratoconus // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 135. – P. 620-627.
26. Wollensak G., Spoerl E., Seiler Th. Stress Strain Measurements of Human and Porcine Corneas after Riboflavin/Ultraviolet-A Induced Crosslinking // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2003. – Vol. 29. – P. 1780-1785.
27. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Behandlung von Keratokonus Durch Kollagenvernetzung // *Ophthalmologie.* – 2003. – Vol. 100. – P. 44-49.
28. Wollensak G., Spoerl E., Wilsh M., Seiler Th. Endothelial Cell Damage after Riboflavin-Ultraviolet-A Treatment in the Rabbit // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2003. – Vol. 29. – P. 1786-1790.
29. Wollensak G., Spoerl E., Wilsch M., Seiler Th. Keratocyte Apoptosis after Corneal Collagen Crosslinking Using Riboflavin/UVA Treatment // *Cornea.* – 2004. – Vol. 23. – P. 43-49.
30. Wollensak G., Wilsch M., Spoerl E., Seiler T. Collagen Fiber Diameter in the Rabbit Cornea after Collagen Crosslinking by Riboflavin/UVA // *Cornea.* – 2004. – Vol. 23. – P. 503-507.
31. Zaldaway R.M., Wagner J., Ching S., Seigel G.M. Evidence of Apoptotic Cell Death in Keratoconus // *Cornea.* – 2002. – Vol. 21. – P. 206-209.

Координаты для связи с авторами: Скачков Дмитрий Павлович – канд. мед. наук, врач-офтальмолог АОКБ, тел. +7-924-673-23-95, e-mail: doc8012@rambler.ru; Штилерман Александр Леонидович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой глазных болезней АГМА; Целуйко Сергей Семенович – д-р мед. наук, профессор, проректор по научной работе АГМА.

