

Кросслиндинг роговицы при септических расплавающих язвах роговицы у собак и кошек

С.А. Бояринов (s.boyarinov@mail.ru), аспирант кафедры биологии и патологии мелких домашних, лабораторных и экзотических животных, ветеринарный врач-офтальмолог.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА им. К.И. Скрябина). Инновационный Ветеринарный Центр (ИВЦ) при МВА имени К.И. Скрябина. (109472, Москва, ул. Ак. Скрябина, д. 23).

Цель исследования. Оценить эффективность и безопасность кросслинкинга коллагена роговицы при расплавающих язвах роговицы у собак и кошек. Описать изменения свойств и структуры роговицы в течение всего периода наблюдения.

Материалы и методы. В исследование включили 15 животных: 8 собак и 7 кошек, которые получали предварительное лечение от основного заболевания, но без положительной динамики. У всех животных отмечен инфекционно-воспалительный процесс в роговице с признаками кератомалации. Всем животным проводили механическую диэпителизацию роговицы с одномоментной поверхностной хирургической обработкой от патологических тканей. Процедуру кросслинкинга выполняли под общей анестезией с предварительным насыщением стромы роговицы раствором рибофлавина в течение 30 минут.

Результаты. У всех животных снизился гнойно-воспалительный процесс через 3...5 дней после кросслинкинга. Угнетение кератомалации отмечено в среднем ко 2...3-му дню после процедуры. К 7-му дню у 11 животных наблюдали стабилизацию раневого процесса и эпителизацию дефекта. У 4-х животных этот процесс продолжался до 10...12 дней. У 13 животных отмечена активная васкуляризация роговицы к 14-му дню после процедуры КЛ. У 2-х животных процесс регенерации был бессосудистый. К 30-му дню наблюдения у 13 животных отмечено полное заживление зоны дефекта роговицы с формированием фиброза и незначительной васкуляризацией, из них 4 собаки имели частичное отложение пигмента в зоне дефекта. У 1 кошки на 15-й день произошла перфорация роговицы с выпадением радужной оболочки и последующей эвисцерацией.

Вывод. Данное исследование показывает, что КЛ эффективен у животных при инфекционных кератитах, сопровождающихся кератомалацией. Эти результаты позволяют предложить КЛ как альтернативу хирургическим методам лечения. Данный метод является безопасным для структур глаза при соблюдении рекомендуемых протоколов, что было подтверждено в нашей работе. Однако, учитывая небольшое число пациентов, необходимы дальнейшие исследования для выбора оптимальных схем комбинированного лечения.

Ключевые слова: кросслиндинг, роговица, язва роговицы, васкуляризация, кератомалация, собака, кошка.

Corneal crosslinking in septic melting corneal ulcers in dogs and cats

S.A. Boyarinov

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K.I. Skryabin (FGBOU VO MGAVMIB — MVA named after K.I. Skryabin). Innovation Veterinary Center of Moscow Veterinary Academy named after K.I. Skryabin (109472, Moscow, Ac K.I. Skryabin str., 23).

Objective of research. To evaluate the efficacy and safety of corneal collagen cross-linking during melting corneal ulcers in dogs and cats. Describe changes in the properties and structure of the cornea during the entire observation period.

Materials and methods. 15 animals were included in the study: 8 dogs and 7 cats that received preliminary treatment for underlying disease, but without positive dynamics. All animals had an infectious-inflammatory process in the cornea with signs of keratomalacia. All animals underwent mechanical diépithelization of cornea with simultaneous surface surgical treatment of pathological tissues. CXL procedure was performed under general anesthesia with preliminary saturation of corneal stroma with riboflavin solution for 30 minutes.

Results. All animals showed a decrease in purulent-inflammatory process 3...5 days after CXL. Keratomalacia inhibition was noted on average by 2 ... 3 days after procedure. By 7th day of observation, stabilization of wound process and epithelization of defect were observed in 11 animals. In 4 animals, this process lasted up to 10...12 days. In 13 animals, we observed active corneal vascularization by the 14th day after CXL. In 2 animals, regeneration process was avascular. By 30th day of observation, 13 animals showed complete healing of corneal defect zone with formation of fibrosis and slight vascularization, of which 4 dogs had partial deposition of pigment in defect zone. And 1 cat on 15th day had a perforation of cornea with iris prolapse and subsequent evisceration.

Conclusion. This study shows that CXL is effective in animals with infectious keratitis, accompanied by keratomalacia. These results allow us to offer CXL as an alternative to surgical methods of treatment. This method is safe for structures of eye while observing recommended protocols, which was confirmed in our work. However, given small number of patients, further research is required to select optimal combination treatment regimen.

Keywords: crosslinking, cornea, corneal ulcer, vascularization, keratomalacia, dog, cat.

Сокращения: ВГЖ — внутриглазная жидкость, КЛ — кросслинкинг, ССГ — синдром сухого глаза, УФО — ультрафиолетовое облучение

Введение

Повреждения роговицы у собак и кошек являются одной из самых частых причин обращения владельцев животных к ветеринарному врачу-офтальмологу. В большинстве случаев дефект роговицы затрагивает значительную часть стромы. Это связано с особенностями анатомического строения глаза и его вспомогательных органов у некоторых пород собак и кошек, несвоевременным обращением владельцев животных к ветеринарному специалисту, а в некоторых случаях неполноценной и недостаточной диагностикой [8]. Такие глубокие повреждения называются язвы роговицы и могут осложняться агрессивной бактериальной микрофлорой [15] (рис. 1), что в отдельных случаях приводит к перфорации глазного яблока и потере зрения [13]. Скорость развития такой патологии может достигать буквально нескольких дней, что обуславливает некоторую сложность в своевременном проведении лечебных мероприятий.



Рис. 1. Внешний вид глаза собаки №4 (слева) и кошки №15 (справа) при септической язве роговицы с кератомализией
Fig. 1. Appearance of eye of dog №4 (left) and cat №15 (right) in septic corneal ulcers with keratomalacia

В последние годы в офтальмологии широкое применение получил такой лечебный метод, как КЛ коллагена роговицы [2]. Метод основан на возбуждении фотосенсибилизатора (рибофлавин) под воздействием УФО типа А, образовании активных форм кислорода и сшивании коллагена роговицы. В результате этого процесса роговица уплотняется, повышается ее биомеханическая прочность [11]. Этот метод является «золотым стандартом» в лечении эктазии роговицы — при кератоконусе, когда роговица истончается и выпячивается вперед [1, 26]. Также данную процедуру с успехом применяют для лечения различных воспалительных и дегенеративных заболеваний роговицы [10, 17], в том числе инфекционных кератитов, тяжело поддающихся медикаментозному лечению [9, 18].

Механизм действия

В 2003 году в институте рефракционной и глазной хирургии Цюрихского университета под руководством Т. Seiler была разработана наиболее эффективная и безопасная методика КЛ роговичного коллагена. Эффект метода основан на фотополимеризации стромальных волокон под воздействием фотосенсибилизатора и подпорогового воздействия УФО. Длина волны, используемая для данной процедуры, составляет 365...370 нм и является наиболее эффективной

и безопасной для интраокулярных структур. В результате фотохимического и фотофизического процессов высвобождаются свободные радикалы кислорода, индуцирующие образование интра- и интерфибрилярных ковалентных связей между молекулами коллагена. Один из наиболее значимых эффектов, наблюдаемых на роговице после проведения КЛ, — это увеличение ее устойчивости к напряжению и деформации. Биомеханические изменения наиболее максимальны в пределах 300...400 мкм и характеризуются увеличением значения модуля Юнга почти в 2 раза у животных и в 4,5 раза у человека [27]. Такой результат связан с эффектом «склеивания» волокон коллагена роговицы и утолщения коллагеновых фибрилл. Благодаря образованию «поперечных сшивок» строма роговицы уплотняется, обеспечивая тем самым большую её биомеханическую прочность.

Цель исследования

Оценить эффективность и безопасность кроссликинга коллагена роговицы при расплавляющих язвах роговицы у собак и кошек. Описать изменения свойств и структуры роговицы в течение всего периода наблюдения.

Материалы и методы

Животные. В исследование включили 15 животных: 8 собак и 7 кошек в возрасте от 4 месяцев до 13 лет (табл. 1). Данная группа была сформирована из животных, которые получали предварительное лечение от основного заболевания, но положительной динамики не наблюдалось или эффект от терапии был незначительный. У всех животных отмечался инфекционно-воспалительный процесс в роговице с признаками кератомализии и наличием клеточного инфильтрата, а также выраженной потерей эпителиально-стромальной ткани. Во многих случаях у животных присутствовали сопутствующие патологии роговицы и глаза в целом.

Предоперационное обследование. Всех животных исследовали по общепринятой методике. Офтальмологическое обследование зоны патологического процесса включало в себя три вида осмотра глаза — наружный, в проходящем направленном свете и при боковом освещении. Глубину, размер и характер дефекта тканей роговицы оценивали посредством щелевой биомикроскопии при 10-кратном увеличении (щелевая лампа Shin Nippon XL-1), применяли также флюоресцеиновую пробу (тест-полоски FluoStrips), тест Ширмера 1 (тест-полоски TearStrips). Ввели фотодокументацию. Роговичный дефект измеряли с помощью офтальмологического циркуля по Кастровыхо.

Процедура КЛ. Предварительно глазную поверхность обрабатывали 0,5%-м раствором повидон-йода с последующей инстилляцией местного анестетика (0,5%-й проксиметакаин). Перед процедурой КЛ проводили аккуратную механическую диэпителизацию роговицы с одномоментной поверхностной хирургической обработкой от патологических тканей алмазным буром Algerbrush II с насадкой 3,5 мм под местной анестезией. Затем пропитывали роговицу препаратом «Декстралинк», содержащим 0,1%-й раствор рибофлавина и дополнительно 20%-й раствор декстрана

1. Базовые характеристики пациентов для проведения КЛ
1. Baseline patient characteristics for crosslinking

№	Вид животного	Порода	Возраст	Продолжительность лечения до процедуры, дни	Расположение дефекта	Размер дефекта, мм	Предыдущее лечение	Дополнительная информация
1	Собака	Французский бульдог	8 лет	14	Центральное	7x6	Флоксал + Корнерегель x4	Количественный ССГ
2	Собака	Ши тцу	7 лет	14	Периферическое	3x3	Флоксал + Индоколлир x2-4	Десцеметозеле (не более 1 мм)
3	Собака	Йоркширский терьер	6 лет	21	Периферическое	3x2	Ирис x4	Блефарит, качественный ССГ
4	Собака	Мопс	1,5 года	14	Периферическое	5x5	Ципровет x3	-
5	Собака	Мопс	1 год	10	Центральное	7x7	Тобрекс, Вигамокс, Корнерегель x4-6	Кератоглобус
6	Кошка	Британская	12 лет	10	Центральное	9x8	Тобрадекс, Хиломакс-Комод x4	-
7	Кошка	Метис	2 года	30	Периферическое	7x7	Макситрол, Тауфон, Корнерегель x2-4	Буллезная кератопатия, перфорация
8	Кошка	Британская	13 лет	10	Центральное	9x8	Тобрекс, Индоколлир, Корнерегель x2-4	Количественный ССГ
9	Кот	Бурма	5 лет	21	Центральное	5x4	Флоксал, Корнерегель x4	-
10	Кот	Метис	4 месяца	14	Центральное	5x4	Ципровет, Корнерегель x2	Перфорация
11	Собака	Чихуахуа	2 года	14	Периферическое	4x4	Флоксал x3-4	-
12	Собака	Мопс	6 месяцев	21	Периферическое	6x5	Ципровет, Корнерегель x3-4	-
13	Кот	Британская	9 месяцев	21	Периферическое	8x7	Ципровет, Окомистин, Диклоф, Корнерегель	Буллезная кератопатия, перфорация, абсцесс роговицы
14	Собака	Той терьер	5 лет	18	Периферическое	5x5	Окомистин, Ципровет, Баларпан, Корнерегель	Количественный ССГ, десцеметозеле
15	Кот	Шотландский	5 лет	14	Центральное	9x8	Тобрекс, Флоксал, Баларпан, Корнерегель	Буллезная кератопатия

в изоосмотичном буфере. Препарат инстиллировали на поверхность диэпителизированной роговицы каждые 2 минуты в течение 30 минут. Пропитывание стромы роговицы рибофлавином, а также проникновение препарата во ВГЖ контролировали при помощи целевой биомикроскопии.

Под общей анестезией животное укладывали на бок, голову поворачивали так, чтобы расположить глазное яблоко в горизонтальном положении с помощью швовдержалок (Пролен 6/0) (рис. 2).

Поверхность роговицы обрабатывали УФО с длиной волны 370 нм на аппарате «УФалинк» в течение 6 интервалов по 5 минут. В течение всего этого периода продолжали инстиллировать раствор «Декстралинк». Общее время УФО составило 30 минут при мощности источника 3мВт.

Послеоперационный период. В раннем послеоперационном периоде всем животным было рекомендовано



Рис. 2. Внешний вид процедуры КЛ
Fig. 2. Appearance of crosslinking procedure

ношение защитного воротника для предупреждения самоотравливания. Для санации глазной поверхности и конъюнктивального мешка использовали физиологический раствор (натрия хлорида 0,9%) предварительно перед применением глазных капель. Всем животным назначали стандартную схему медикаментозного лечения, включающую в себя местное применение глазных капель: 0,3%-й раствор тобрамицина в качестве антимикробного препарата широкого спектра действия и изотонический 0,2%-й водный раствор натрия гиалуроната без консервантов в качестве лубриканта и кератопротектора. Кратность инстилляций составляла 4 раза в день, длительность применения — 14 дней. В отдаленный послеоперационный период для уменьшения васкуляризации и фиброза роговицы применяли комбинированные глазные капли, содержащие 0,1%-й раствор дексаметазона и 0,3%-й раствор тобрамицина в сочетании с увлажнением роговицы (раствор натрия гиалуроната). Кратность инстилляций составляла 2...3 раза в день, длительность применения — 14...21 день. Животных осматривали на 7-й, 14-й, 30-й день после УФО.

Результаты

Всем животным была проведена процедура КЛ по вышеуказанной методике. У всех животных мы отмечали снижение гнойно-воспалительного процесса в первые 3...5 дней после проведения УФО. Стабилизация процесса кератомалиции отмечена в среднем ко 2...3-му дню после процедуры КЛ. По данным биомикроскопии, к 7-му дню у 11 животных наблюдали стабилизацию раневого процесса и эпителизацию дефекта. У 4-х животных этот процесс продолжался до 10...12 дней.

У 13 животных мы наблюдали активную васкуляризацию роговицы с формированием в зоне дефекта зоны грануляции и фиброваскулярного паннуса, что свидетельствовало о сосудистом типе заживления к 14-му дню после процедуры КЛ. У 2-х животных процесс регенерации был бессосудистый с незначительной глубокой васкуляризацией на периферии роговицы.

К 30-му дню наблюдения у 13 животных мы отмечали полное заживление зоны дефекта роговицы с формированием фиброза и незначительной остаточной васкуляризацией. Из них у 4-х собак (3 мопса и 1 французский бульдог) мы отмечали частичное отложение пигмента в зоне дефекта. У 1 животного к 30-му дню после УФО (кошка) фиброз и васкуляризация отсутствовали, а роговица была прозрачная. У 1 животного (кошка) на 15-й день произошла перфорация роговицы с выпадением радужной оболочки и последующей эквисцерацией в другой клинике.

Обсуждение

КЛ становится все более популярным в лечении заболеваний роговицы у человека. В большинстве случаев метод УФО применяют при начальных стадиях эктазий роговицы — кератоконусе [3]. Тем не менее, все большее распространение данная процедура находит при лечении инфекционных кератитов [7, 16].

Отмечено, что при КЛ достигается выраженный противомикробный эффект за счет взаимодействия ультрафиолета и рибофлавина [4, 21]. Механизм дей-

ствия представлен непосредственным влиянием УФО на генетический материал микробов *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp.*, неспецифическим повреждением в результате окислительного стресса и более специфическим эффектом, основанным на интеркаляции рибофлавина, приводящей к окислению гуанина ДНК/РНК микробов [12]. Этот эффект очень важен у животных, так как потенциальная угроза инфицирования роговицы сохраняется во всех случаях повреждений [13, 15].

Другое потенциальное преимущество КЛ — его токсическое действие на воспалительные клетки, которое может ограничивать воспалительный ответ на инфекцию, повреждение сопутствующих тканей и последующее рубцевание [6]. Мы отмечали снижение гнойно-воспалительного процесса у большинства животных к 7-му дню после процедуры. Стоит отметить, что инстилляцией антимикробных препаратов в виде глазных капель были умеренные, а системную антибиотикотерапию не назначали вовсе, что положительно сказывается на выполнении рекомендаций.

Важным, по нашему мнению, эффектом КЛ является его угнетающее воздействие на процесс кератомалиции. Известно, что расплавление роговицы происходит в результате каскада реакций в ответ на повреждение эпителия и стромы роговицы, выделения и переизбытка таких коллагенолитических ферментов, как матриксная металлопротеиназа-2 и матриксная металлопротеиназа-9 [20, 28]. Продукты деятельности вторичной бактериальной микрофлоры также провоцируют процесс кератомалиции, усиливая активность протеолитических ферментов [24]. В результате сочетанного воздействия на роговицу УФО и рибофлавина усиливается ее сопротивляемость ферментам, ответственным за разрушение коллагена [23]. Изменение третичной структуры коллагеновых фибрилл приводит к блоку специфических участков, взаимодействующих с протеолитическими ферментами слезы и воспалительных клеток, обеспечивая тем самым устойчивость ткани к коллагеназной биодеградации [19].

В большинстве случаев (13 животных) после УФО мы наблюдали активную сосудистую реакцию к 14-му дню после процедуры (рис. 3...6). Формирование грануляционной ткани на месте дефекта может негативно сказываться на зрительных функциях глаза. Тем не менее, такой тип заживления роговицы, по нашему мнению, является предпочтительным для животных. Активный приток новых фибробластов, а также факторов, усиливающих разрастание соединительной ткани, в сочетании с эффектами КЛ способствует уплотнению истонченной роговицы в месте дефекта. Значительная васкуляризация роговицы купировалась в отдаленном послеоперационном периоде добавлением в схему лечения стероидных противовоспалительных препаратов, в частности дексаметазона в виде глазных капель. На 30-е сутки после процедуры мы отмечали фиброз различной степени, в зависимости от глубины поражения стромы роговицы (см. рис. 3...6), а также появление так называемого псевдохейза (англ. haze — мгла) или отека роговицы в зоне облучения. Это связано с апоптотической гибелью кератоцитов в строме и развитием лакунарного отека вокруг них. Данное осложнение



Рис. 3. Состояние глаза пациента №9 до лечения (слева), через 14 дней (в центре) и через 30 дней (справа) после КЛ
Fig. 3. Patient №9 eye condition before treatment (left), 14 days (center) and 30 days after crosslinking (right)



Рис. 4. Состояние глаза пациента №5 до лечения (слева), через 14 дней (по центру) и через 30 дней (справа) после КЛ
Fig. 4. Patient №4 eye condition before treatment (left), 14 days (central) and 30 days after crosslinking (right)



Рис. 5. Состояние глаза пациента №14 до лечения (слева), через 14 дней (по центру) и через 30 дней (справа) после КЛ
Fig. 5. Patient № 2 eye condition before treatment (left), 14 days (central) and 30 days after crosslinking (right)



Рис. 6. Состояние глаза пациента №13 до лечения (слева), после поверхностной хирургической обработки (в центре) и через 30 дней после КЛ (справа)
Fig. 6. Patient №8 eye condition before treatment (left), after superficial surgical treatment (center) and 30 days after crosslinking (right)

самостоятельно разрешается через 3...5 месяцев после процедуры за счет репопуляции кератоцитов [14].

Важное значение, по нашему мнению, имеет поверхностная хирургическая обработка роговицы, которая

позволяет, во-первых, удалить патологические некротизированные ткани, во-вторых, провести диэпителизацию. Данная манипуляция будет способствовать интенсивному пропитыванию стромы рибофлавином,

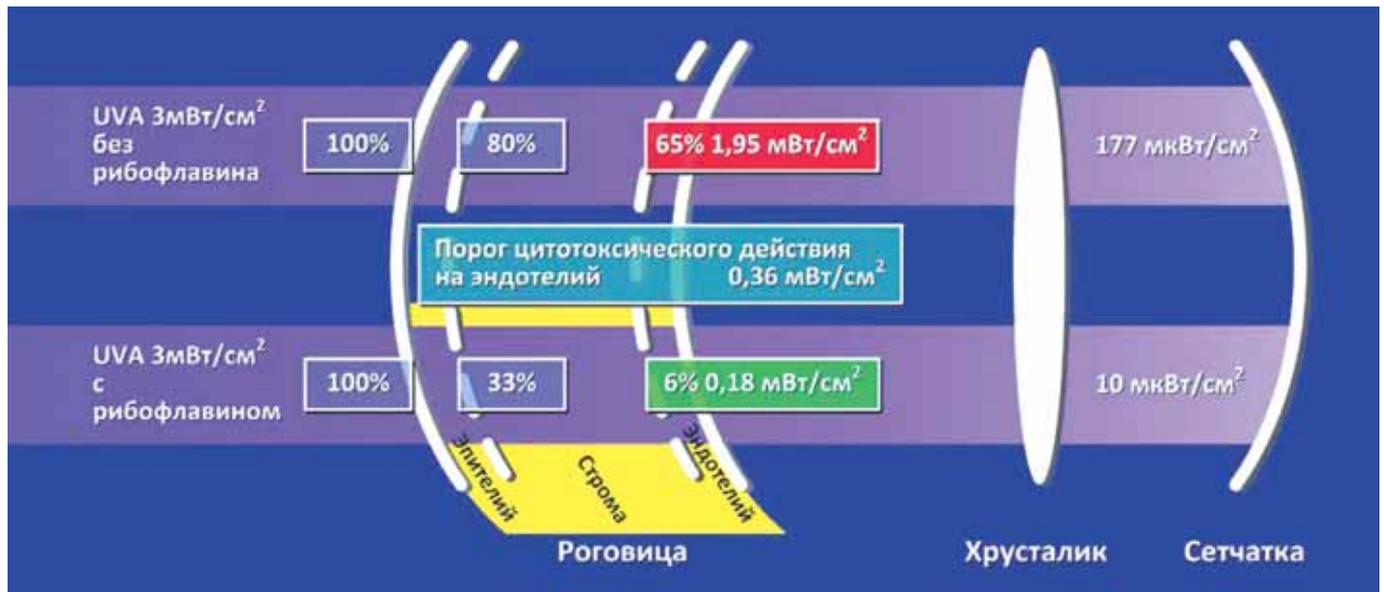


Рис. 7. Степень воздействия УФО на эндотелий роговицы, хрусталик и сетчатку в присутствии рибофлавина и без него
Fig.7. Extent of UV exposure on the corneal endothelium, lens and retina in presence of riboflavin and without it

а также лучшему его проникновению во ВГЖ для защиты от УФО [5].

Применяемая мощность УФО при КЛ составляет 3 мВт/см² при 30-минутном периоде проведения процедуры. По мере увеличения мощности излучения уменьшается и время экспозиции, а эффективность остается прежней. Несмотря на потенциальную опасность для структур глаза УФО, сама процедура КЛ максимально безопасна [22]. Мы не отмечали каких-либо изменений со стороны тканей глаза, а также интраокулярных структур и зрительных функций. Это связано с протективными свойствами рибофлавина, который накапливается в строме роговицы и ВГЖ, защищая хрусталик и сетчатку от действия ультрафиолета (рис. 7).

Так называемый «рибофлавиновый щит» поглощает до 95 % исходящего УФО на уровне передней и средней стромы. Доказано, что после КЛ роговицы лимбальные и конъюнктивальные клетки, находящиеся как в зоне, так и вне зоны облучения, не претерпевают никаких изменений [25]. Тем не менее, рекомендуется избегать интенсивного облучения лимбальной зоны стволовых клеток, чтобы избежать потенциальных осложнений.

Выводы

На основании полученных данных можно резюмировать, что КЛ показал хорошую эффективность у животных при инфекционных кератитах, сопровождающихся кератомалацией. Эти результаты позволяют предложить КЛ как альтернативу хирургическим методам лечения септических язв роговицы или в качестве дополнительной манипуляции при медикаментозном лечении. Это может помочь избежать таких сложных микрохирургических вмешательств, как пересадка донорской роговицы, корнеоконъюнктивальная пластика и т. д.

Лечебный эффект КЛ реализуется за счет его антимикробного, антиферментного действия, а также усиления прочностных свойств стромы и повышения устойчивости ткани роговицы к микробным ферментам.

Процедура УФО роговицы не сопряжена с приобретением специальных навыков или микрохирургических инструментов, поэтому ее легко выполнять в условиях ветеринарных клиник. Данный метод является безопасным для структур глаза при соблюдении рекомендуемых протоколов, что было подтверждено в нашей работе. Однако, учитывая небольшое число пациентов, требуется продолжение исследования для выбора оптимальных схем комбинированного лечения.

Конфликт интересов

Автор статьи не имеет финансовых или личных отношений с другими лицами или организациями, которые могли бы повлиять на достоверность или содержание этой работы.

Библиография

1. Бикбов, М.М. Применение кросслинкинга роговичного коллагена в лечении буллезной кератопатии / М.М. Бикбов, Г.М. Бикбова, А.Ф. Хабибуллин // Офтальмохирургия. — 2011. — №1. С. 33–34.
2. Бикбов, М.М. Ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы / М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов // Вестн. Рос. акад. мед. наук. — 2016. — Т. 71. — №3. — С. 224–232.
3. Медведев, И.Б. Кросслиндинг: методические подходы и применение в офтальмологии / И.Б. Медведев, В.Ю. Евграфов, Н.Н. Дергачева // Офтальмология. — 2016. — №13(2). — С. 56–61.
4. Alio, J.L. Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases / J.L. Alio, A. Abbouda, D.D. Valle, J.M. Del Castillo, J.A. Fernandez // J Ophthalmic Inflamm Infect. — 2013. No. 3(1). — pp. 47.
5. Bikbov, M.M. Dynamics of riboflavin level in aqueous humour of anterior chamber of experimental animals under standard stroma saturation by ultraviolet corneal cross-linking solutions / M.M. Bikbov, N.E. Shevchuk, A.R. Khalimov, G.M. Bikbova // Vestn Oftalmol. — 2016. — 132(6). — pp. 29–35.
6. Chan, E. Treatment of infectious keratitis with riboflavin and ultraviolet-A irradiation / E. Chan, G.R. Snibson, L. Sullivan // J Cataract Refract Surg. — 2014. — No. 40(11). — pp. 1919–1925.
7. Famose, F. Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs / F. Famose // Vet Ophthalmol. — 2014 Sep. — No. 17(5). — pp. 358–367.
8. Gilger, N. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: Veterinary Ophthalmology. — ed. Gelatt KN. — Blackwell Pub, Ames, Iowa, 2007. — 643 p.

9. Iseli, H.P. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts / H.P. Iseli, M.A. Thiel, F. Hafezi // *Cornea*. — 2008. — No. 27(5). — pp. 590–594.
10. Kim, J. Corneal collagen cross-linking following superficial keratectomy as treatment for corneal endothelial cell dystrophy in dogs: Preliminary clinical study / J. Kim, D.B. Ji, N. Takiyama, J. Bae, M.S. Kim // *Vet Ophthalmol.* — 2018 Aug. — No. 15. — pp. 1–8
11. Lanchares, E. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time / E. Lanchares, M.A. del Buey, J.A. Cristóbal // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* — 2011 Aug. — No. 249(8). — pp. 1223–1227.
12. Martins, S. Antimicrobial efficacy of riboflavin/ UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis / S. Martins, J. Combs, G. Noguera // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2008. — No. 49 (8). — pp.3402–3408.
13. Massa, K.L. Usefulness of aerobic microbial culture and cytologic evaluation of corneal specimens in the diagnosis of infectious ulcerative keratitis in animals / K.L. Massa, C.J. Murphy, F.A. Hartmann // *J Am Vet Med Assoc.* — 1999 Dec. — No. 215(11). — pp. 1671–1674.
14. Mastropasqua, L. Morphological modification of the cornea after standard and transepithelial corneal cross-linking as imaged by anterior segment optical coherence tomography and laser scanning in vivo confocal microscopy / L. Mastropasqua, M. Nubile, M. Lanzini, R. Calienno, R. Mastropasqua, L. Agnifili // *Cornea*. — 2013. — No. 32. — pp. 855–861.
15. Murphy, J.M. Survey of conjunctival flora in dogs with clinical signs of external eye disease / J.M. Murphy, J.D. Lavach, G.A. Severin // *J Am Vet Med Assoc.* — 1978 Jan 1. — No. 172(1). — pp. 66–68.
16. Pot, S.A. Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: results of a prospective, nonrandomized, controlled trial / S.A. Pot, N.S. Gallhöfer, F.L. Matheis, K. Voelter-Ratson, F. Hafezi, B.M. Spiess // *Vet Ophthalmol.* — 2014 Jul. — No. 17(4). — pp. 250–260.
17. Pot, S.A. Treatment of bullous keratopathy with corneal collagen cross-linking in two dogs / S.A. Pot, N.S. Gallhöfer, L. Walsler-Reinhardt, F. Hafezi, B.M. Spiess // *Vet Ophthalmol.* — 2015 Mar. — No. 18(2). — pp. 168–173.
18. Said D., Elalfy M., Gatzioufas Z. Collagen Cross-Linking with Photoactivated Riboflavin (PACK-CXL) for the Treatment of Advanced Infectious Keratitis with Corneal Melting / D. Said, M. Elalfy, Z. Gatzioufas // *Ophthalmology*. — 2014. — No. 121(7). — pp. 1377–1382.
19. Schilde, T. Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas / T. Schilde, M. Kohlhaas, E. Spoerl // *Ophthalmology*. — 2008 Feb. — No. 105(2). — pp. 165–169.
20. Sivak, J.M. MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology / J.M. Sivak, M.E. Fini // *Prog Retin Eye Res* — 2002. — No. 21. — pp. 1–14.
21. Spiess, B.M. Corneal collagen cross-linking (CXL) for the treatment of melting keratitis in cats and dogs: a pilot study / B.M. Spiess, S.A. Pot, M. Florin, F. Hafezi // *Vet Ophthalmol.* — 2014 Jan. — No. 17(1). — pp. 1–11.
22. Spoerl, E. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea / E. Spoerl, M. Mrochen, D. Sliney // *Cornea*. — 2007 May. — No. 26(4). — pp. 385–389.
23. Spoerl, E. Increased Resistance of Crosslinked Cornea against Enzymatic Digestion / E. Spoerl, G. Wollensak, T. Seiler // *Curr Eye Res*. — 2004 Jul. — No. 29(1). — pp. 35–40.
24. Wang, L. Evaluation of matrix metalloproteinase concentrations in precorneal tear film from dogs with *Pseudomonas aeruginosa*-associated keratitis / L. Wang, Q. Pan, Q. Xue // *Am J Vet Res*. — 2008. — No. 69. — pp. 1341–1345.
25. Wollensak, G. Limbal and conjunctival epithelium after corneal cross-linking using riboflavin and UVA / G. Wollensak, C. Mazzotta, T. Kalinski, S. Sel // *Cornea*. — 2011 Dec. — No. 30(12). — pp. 1448–1454.
26. Wollensak, G. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus / G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler // *Am J Ophthalmol.* — 2003 May. — No. 135(5). — pp. 620–627.
27. Wollensak, G. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking / G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler // *J Cataract Refract Surg*. — 2003 Sep. — No. 29(9). — pp. 1780–1785.
28. Wong, T.L. Matrix metalloproteinases in disease processes in the anterior segment / T.L. Wong, C. Sethi, J.T. Daniels // *Surv Ophthalmol.* — 2002. — No. 47. — pp. 239–256.
4. Alio J.L., Abbouda A., Valle D.D., Del Castillo J.M., Fernandez J.A., Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases, *J Ophthalmic Inflamm Infect.*, 2013, No. 3(1), pp. 47.
5. Bikbov M.M., Shevchuk N.E., Khalimov A.R., Bikbova G.M., Dynamics of riboflavin level in aqueous humour of anterior chamber of experimental animals under standard stroma saturation by ultraviolet corneal cross-linking solutions, *Vestn Oftalmol.*, 2016, No. 132(6), pp. 29–35.
6. Chan E., Snibson G.R., Sullivan L., Treatment of infectious keratitis with riboflavin and ultraviolet-A irradiation, *J Cataract Refract Surg.*, 2014, No. 40(11), pp. 1919–1925.
7. Famose F., Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs, *Vet Ophthalmol.*, 2014 Sep, No. 17(5), pp. 358–367.
8. Gilger N., *Diseases and surgery of the canine cornea and sclera*. In: *Veterinary Ophthalmology*, (ed. Gelatt KN), Blackwell Pub, Ames, Iowa, 2007, 643 p.
9. Iseli H.P., Thiel M.A., Hafezi F., Ultraviolet A / riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts, *Cornea*, 2008, No. 27(5), pp. 590–594.
10. Kim J., Ji D.B., Takiyama N., Bae J., Kim M.S., Corneal collagen cross-linking following superficial keratectomy as treatment for corneal endothelial cell dystrophy in dogs: Preliminary clinical study, *Vet Ophthalmol*, 2018 Aug, No. 15, pp. 1–8.
11. Lanchares E., del Buey M.A., Cristóbal J.A., Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 2011 Aug, No. 249(8), pp. 1223–1227.
12. Martins S., Combs J., Noguera G., 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, No. 49 (8), pp. 3402–3408.
13. Massa K.L., Murphy C.J., Hartmann F.A., Usefulness of aerobic microbial culture and cytologic evaluation of corneal specimens in the diagnosis of infectious ulcerative keratitis in animals, *J Am Vet Med Assoc.*, 1999 Dec., No. 215(11), pp. 1671–1674.
14. Mastropasqua L., Nubile M., Lanzini M., Calienno R., Mastropasqua R., Agnifili L., Morphological modification of the cornea after standard and transepithelial corneal cross-linking as imaged by anterior segment optical coherence tomography and laser scanning in vivo confocal microscopy, *Cornea*, 2013, No. 32, pp. 855–861.
15. Murphy J.M., Lavach J.D., Severin G.A., Survey of conjunctival flora in dogs with clinical signs of external eye disease, *J Am Vet Med Assoc.*, 1978 Jan., No. 172(1), pp. 66–68.
16. Pot S.A., Gallhöfer N.S., Matheis F.L., Voelter-Ratson K., Hafezi F., Spiess B.M., 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 Jul, No. 17(4), pp. 250–260.
17. Pot S.A., Gallhöfer N.S., Walsler-Reinhardt L., Hafezi F., Spiess B.M., Treatment of bullous keratopathy with corneal collagen cross-linking in two dogs, *Vet Ophthalmol*, 2015 Mar, No. 18(2), pp. 168–173.
18. Said D., Elalfy M., Gatzioufas Z., Collagen Cross-Linking with Photoactivated Riboflavin (PACK-CXL) for the Treatment of Advanced Infectious Keratitis with Corneal Melting, *Ophthalmology*, 2014, No. 121(7), pp. 1377–1382.
19. Schilde T., Kohlhaas M., Spoerl E., Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas, *Ophthalmology*, 2008 Feb, No. 105(2), pp. 165–169.
20. Sivak J.M., Fini M.E., MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology, *Prog Retin Eye Res*, 2002, No. 21, pp. 1–14.
21. Spiess B.M., Pot S.A., Florin M., Hafezi F., Corneal collagen cross-linking (CXL) for the treatment of melting keratitis in cats and dogs: a pilot study, *Vet Ophthalmol.*, 2014 Jan/ No. 17(1), pp. 1–11.
22. Spoerl E., Mrochen M., Sliney D., Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea, *Cornea*. 2007 May, No. 26(4), pp. 385–389.
23. Spoerl E., Wollensak G., Seiler T., Increased Resistance of Crosslinked Cornea against Enzymatic Digestion, *Curr Eye Res.*, 2004 Jul, No. 29(1), pp. 35–40.
24. Wang L., Pan Q., Xue Q., Evaluation of matrix metalloproteinase concentrations in precorneal tear film from dogs with *Pseudomonas aeruginosa*-associated keratitis, *Am J Vet Res*, 2008, No. 69, pp. 1341–1345.
25. Wollensak G., Mazzotta C., Kalinski T., Sel S., Limbal and conjunctival epithelium after corneal cross-linking using riboflavin and UVA, *Cornea*, 2011 Dec, No. 30(12), pp. 1448–1454.
26. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T., Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus, *Am J Ophthalmol.*, 2003 May, No. 135(5), pp. 620–627.
27. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T., Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking, *J Cataract Refract Surg*. 2003 Sep, No. 29(9), pp. 1780–1785.
28. Wong T.L., Sethi C., Daniels J.T., Matrix metalloproteinases in disease processes in the anterior segment, *Surv Ophthalmol.*, 2002, No. 47, pp. 239–256.

References

1. Bikbov M.M., Bikbova G.M., Habibullin A.F., Corneal collagen crosslinking management in bullous keratopathy treatment, *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*, 2011, No. 1, pp. 33–34. (In Russ.)
2. Bikbov M.M., Khalimov A.R., Usubov E.L., Ultraviolet Corneal Crosslinking, *Annals of the Russian academy of medical sciences*, 2016, Vol. 71, No. 3, pp. 224–232. (In Russ.)
3. Medvedev I.B., Evgrafov V.J., Dergacheva N.N., Crosslinking: methodological approaches and application in ophthalmology, *Ophthalmology in Russia*, 2016, No. 13(2), pp. 56–61. (In Russ.)