

角膜缘保护技术在经上皮角膜交联术中的应用效果

王萌萌, 王晶晶, 刘延东, 李明然, 尹会苏, 张印博, 董兴国

引用: 王萌萌, 王晶晶, 刘延东, 等. 角膜缘保护技术在经上皮角膜交联术中的应用效果. 国际眼科杂志 2021;21(5):899-902

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.81700873); 河北省重点研发计划项目 (No.18277754D); 河北省医学科学研究课题计划项目 (No.20200842); 河北省中医药管理局科研计划项目 (No.2020553); 邢台市科技计划项目 (No.2016ZC262)

作者单位: (054001) 中国河北省邢台市, 河北省眼科医院 河北省眼科学重点实验室

作者简介: 王萌萌, 毕业于首都医科大学, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 屈光、白内障。

通讯作者: 王萌萌. wangmengmg@163.com

收稿日期: 2020-06-04 修回日期: 2021-04-07

摘要

目的: 评估经上皮角膜交联 (Epi-on CXL) 术中采用角膜缘保护技术治疗圆锥角膜的临床应用效果。

方法: 前瞻性临床研究。选取 2019-01/12 我院收治拟行 Epi-on CXL 手术的双眼进展期圆锥角膜患者 15 例 30 眼, 将右眼 15 眼纳入试验组, 术中采用角膜缘保护技术; 左眼 15 眼纳入对照组, 术中不采用角膜缘保护技术。比较两组患眼前和术后最佳矫正远视力、散光度、角膜曲率 Sim-K 平均值 (Km)、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间及术后不适感、角膜上皮愈合时间的差异。

结果: 与术前相比, 术后 3mo 时两组最佳矫正远视力、散光度均改善 ($P < 0.05$), 术后角膜最薄点厚度逐渐减小 ($P < 0.05$), 术后 3mo 内泪膜破裂时间变短 ($P < 0.05$), 但两组之间最佳矫正远视力、散光度、Km、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间、术后不适感方面均无差异 ($P > 0.05$), 且试验组术后角膜上皮愈合时间比对照组短 ($3.20 \pm 0.56d$ vs $3.73 \pm 0.96d$, $P = 0.041$)。

结论: 角膜缘保护技术能够缩短 Epi-on CXL 术后角膜上皮愈合时间, 初步证实了该技术在 Epi-on CXL 手术中应用的可行性。

关键词: 圆锥角膜; 交联; 角膜缘; 紫外光; 核黄素

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.5.31

Application of limbal protection technique in epithelium-on corneal collagen cross-linking

Meng-Meng Wang, Jing-Jing Wang, Yan-Dong Liu, Ming-Ran Li, Hui-Su Yin, Ying-Bo Zhang, Xing-Guo Dong

Foundation items: National Natural Science Foundation of China

(No.81700873); Key Research and Development Program of Hebei Province (No.18277754D); Medical Science Research Project Plan of Hebei Province (No.20200842); Research Program of Hebei Administration of Traditional Chinese Medicine (No.2020553); Science and Technology Program of Xingtai City (No.2016ZC262) Hebei Provincial Key Laboratory of Ophthalmology; Hebei Provincial Eye Hospital, Xingtai 054001, Hebei Province, China

Correspondence to: Meng-Meng Wang. Hebei Provincial Key Laboratory of Ophthalmology; Hebei Provincial Eye Hospital, Xingtai 054001, Hebei Province, China. wangmengmg@163.com

Received:2020-06-04 Accepted:2021-04-07

Abstract

• AIM: To evaluate the clinical effect of a limbus protection technique during epithelium-on corneal collagen cross-linking (Epi-on CXL) for keratoconus treatment.

• METHODS: Prospectively clinical study. A total of 15 patients (30 eyes) with diagnosed binocular progressive keratoconus were selected and treated with Epi-on CXL in my hospital from Jan. to Dec. 2019, and divided into 2 groups, Limbus-protecting Group and Control Group. The differences in corrected distance visual acuity, astigmatism, Km, thickness at the thinnest point of cornea, postoperative discomfort score, corneal epithelium healing time, and tear breakup time were compared between the two groups pre- and postoperatively.

• RESULTS: The corrected distance visual acuity and astigmatism were improved at 3mo postoperatively ($P < 0.05$). The thickness at the thinnest point of cornea and the tear breakup time decreased after Epi-on CXL surgeries ($P < 0.05$). No difference was found in parameters of corrected distance visual acuity, astigmatism, Km, thickness at the thinnest point of cornea, tear break up time, and postoperative discomfort sore between the two groups ($P > 0.05$). However, the postoperative corneal epithelium healing time in Limbus-protecting Group was shorter than in Control Group ($3.20 \pm 0.56d$ vs $3.73 \pm 0.96d$, $P = 0.041$).

• CONCLUSION: This limbal protection technique can reduce the corneal epithelium healing time after Epi-on CXL surgery, which preliminarily shows the feasibility of this technique.

• KEYWORDS: keratoconus; cross-linking; limbus; ultraviolet; riboflavin

Citation: Wang MM, Wang JJ, Liu YD, et al. Application of limbal protection technique in epithelium-on corneal collagen cross-linking. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(5):899-902

0 引言

角膜交联 (corneal collagen cross-linking, CXL) 是一类提高角膜生物力学强度和对抗生物降解能力的新型技术, 目前专指已经在眼科临床上应用的紫外光-核黄素 (riboflavin) 角膜交联手术技术。CXL 采用 370nm 的紫外光 A 照射被核黄素浸润的角膜, 可以使角膜纤维之间发生共价键结合, 提高了胶原纤维的生物力学强度和生物学稳定性, 主要用于治疗圆锥角膜、大泡性角膜病变、角膜炎等疾病^[1]。大量研究已经表明, CXL 能够有效阻止圆锥角膜的进展, 是目前圆锥角膜综合治疗措施中的重要组成部分。CXL 的主流术式有两种, 即经典的去上皮角膜交联 (epithelium-off CXL, Epi-off CXL) 和经上皮角膜交联 (epithelium-on CXL, Epi-on CXL)。Epi-off CXL 又被称为 Dresden 方案, 是最早提出的经典角膜交联方案, 由于角膜上皮层的细胞间紧密连接阻碍了光敏剂核黄素渗透进入角膜基质层, 需要术中人为去除角膜上皮层, 因此不可避免地带来了术后疼痛和角膜上皮愈合问题; Epi-on CXL 又被称为跨上皮角膜交联 (transepithelial corneal collagen cross-linking, TECXL), 是采用化学和电渗等方法促进核黄素进入角膜基质层, 由于术中不用去除角膜上皮, 所以术后不适感较轻, 视力恢复也较快。其中化学法是在核黄素溶液中加入苯扎氯铵或乙二胺四乙酸 (EDTA) 等化学促渗剂。这些化学促渗剂能够引起角膜上皮细胞间的紧密连接发生断裂, 导致角膜上皮疏松, 便于核黄素的渗透。与电渗法相比, 化学法不需要特殊仪器, 所以在国内外应用较多^[2]。

尽管 CXL 对圆锥角膜具有明显的防治作用, 但是该手术的安全风险依然不能被忽视, 尤其是紫外光 A^[3] 和化学促渗剂^[4] 都具有一定的组织毒性, CXL 本身也会引起治疗部位组织细胞的死亡^[5]。基础研究已经发现 CXL 手术可造成角膜缘干细胞的损伤, 并建议在术中对角膜缘进行必要的保护^[6], 然而目前国内外尚未见有关角膜缘保护的临床研究报道。我院自 2015 年开展 CXL 手术以来, 一直重视术中对角膜缘的保护。本研究将对治疗圆锥角膜的 Epi-on CXL 术中使用的—种角膜缘保护技术的临床应用效果进行评估。

1 对象和方法

1.1 对象 本研究为前瞻性临床研究。选取 2019-01/12 河北省眼科医院收治拟行 Epi-on CXL 手术的双眼进展期圆锥角膜患者 15 例 30 眼, 其中男 8 例, 女 7 例, 平均年龄 20.2 ± 1.8 岁。右眼 15 眼纳入试验组, Epi-on CXL 术中采用角膜缘保护技术; 左眼 15 眼纳入对照组, Epi-on CXL 术中不采用角膜缘保护技术。纳入标准: (1) 年龄大于 18 周岁; (2) 明确诊断为双眼进展期圆锥角膜; (3) 中央角膜厚度大于 $400 \mu\text{m}$; (4) 双眼行 Epi-on CXL 手术。排除标准: (1) 伴有其它眼部合并症; (2) 患有全身系统性疾病; (3) 有眼部感染史; (4) 有眼部手术史; (5) 有眼部外伤史; (6) 有软性或硬性角膜接触镜配戴史。本研究经过河北省眼科医院医学伦理委员会的许可实施, 手术前每位患者及其家属均充分理解该研究的意义和手术风险, 并自愿签署科研和手术知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 手术方法 所有患者术前 3d 均采用 5g/L 左氧氟沙星滴眼液点眼, 每天 4 次。Epi-on CXL 手术均由同一名



图 1 在 Epi-on CXL 手术中采用的角膜缘保护技术 术中治疗区域外的眼球表面涂抹医用透明质酸钠凝胶, 并在角膜上放置自制的—锈钢金属环, 该技术能够防止含有化学促渗剂的核黄素溶液渗漏到非治疗区域的角结膜表面, 并能遮挡角膜缘以避免紫外光的辐射损伤。

手术医师 (第一作者) 采用 KXL 紫外光交联系统完成。眼部消毒、铺巾、开睑, 表面麻醉。试验组首先在角膜缘和球结膜表面注射薄薄的一层医用透明质酸钠凝胶, 在角膜表面居中放置已灭菌的自制—锈钢金属环 (内径 9.0mm, 外径 13.0mm, 厚 2.0mm), 用蘸有生理盐水的海绵将金属环中央孔内露出的角膜表面擦拭干净后滴加 0.25% 核黄素透上皮配方溶液 (含乙二胺四乙酸、碱式氯化铝等化学促渗剂) 至覆盖住裸露的角膜表面, 注意不要让核黄素溶液从角膜和金属环表面流下来 (图 1)。浸泡角膜 240s 后生理盐水冲洗并蘸干角膜, 滴加 0.25% 核黄素盐溶液 (不含化学促渗剂) 浸泡 360s, 再次生理盐水冲洗并蘸干角膜。采用 $370 \pm 5\text{nm}$ 紫外光 A 照射角膜表面 160s, 光斑直径 9mm, 照度 $45\text{mW}/\text{cm}^2$, 能量密度 $7.2\text{J}/\text{cm}^2$, 照射过程中适时滴加生理盐水以保持角膜表面湿润。试验组角膜表面的金属环自手术开始时放置, 直至紫外光照射结束取下。对照组不放置金属环, 直接在角膜表面滴加 0.25% 核黄素透上皮配方溶液使之覆盖住全部角膜表面, 将流淌进入结膜囊内多余的 0.25% 核黄素透上皮配方溶液用棉签擦除, 其余用药和紫外光照射步骤同试验组。两组术后均采用 5g/L 左氧氟沙星滴眼液点眼, 4 次/天, 共 14d; 1g/L 玻璃酸钠滴眼液点眼, 4 次/天, 共 14d; 1g/L 氟米龙滴眼液点眼, 4 次/天, 共 7d, 每周递减 1 次, 持续 4wk。

1.2.2 随访观察 随访并记录术前、术后 7d, 3mo 时两组最佳矫正远视力、散光度、角膜曲率 Sim-K 平均值 (Km)、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间, 其中 Km、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间均采用 Sirius 眼前节分析系统检测获得。术后 7d 时, 采用患者主观评分法评估术后不适感, 总分 0~9 分, 0 分为无不适, 9 分为非常痛苦。随访期间, 观察并记录两组角膜上皮愈合时间。

统计学分析: 采用 IBM SPSS Statistics 23 统计软件包进行数据分析。计量资料的统计描述采用均数 \pm 标准差表示, 采用重复测量设计的广义估计方程比较手术前后两组最佳矫正远视力、散光度、Km、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间的差异; 采用配对样本 *t* 检验比较两组术后不适感和术后角膜上皮愈合时间的差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

手术前后不同时间点两组最佳矫正远视力、散光度、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间比较, 均具有时间差异性

表 1 手术前后各观察指标检测结果

观察指标	组别	眼数	术前	术后 7d	术后 3mo
最佳矫正远视力(LogMAR)	试验组	15	0.41±0.33	0.40±0.29	0.35±0.30
	对照组	15	0.45±0.23	0.48±0.21	0.43±0.22
散光度(D)	试验组	15	-3.65±2.28	-3.50±3.09	-3.17±2.22
	对照组	15	-3.52±2.55	-3.03±3.52	-2.87±3.11
角膜最薄点厚度(μm)	试验组	15	442.33±36.77	446.20±35.90	401.00±37.18
	对照组	15	443.33±28.97	452.13±33.08	401.27±30.70
泪膜破裂时间(s)	试验组	15	13.87±1.13	10.73±2.49	11.93±1.49
	对照组	15	13.93±1.16	10.07±2.40	11.53±2.42
Km(D)	试验组	15	48.43±2.29	48.36±2.13	48.26±2.07
	对照组	15	49.39±3.11	49.38±3.17	49.44±3.19

注:试验组:Epi-on CXL 术中采用角膜缘保护技术;对照组:Epi-on CXL 术中不采用角膜缘保护技术。

表 2 广义估计方程中各观察指标时间差异分析结果

观察指标	两两比较	B	SE	χ ²	P
最佳矫正远视力	术前 vs 术后 7d	0.010	0.0153	0.413	0.520
	术前 vs 术后 3mo	0.040	0.0156	6.421	0.011
	术后 7d vs 术后 3mo	0.049	0.0123	16.102	<0.001
散光度	术前 vs 术后 7d	0.317	0.3255	0.946	0.331
	术前 vs 术后 3mo	0.567	0.2804	4.085	0.043
	术后 7d vs 术后 3mo	0.250	0.1629	2.356	0.125
角膜最薄点厚度	术前 vs 术后 7d	6.333	1.3931	20.668	<0.001
	术前 vs 术后 3mo	41.700	1.5749	701.071	<0.001
	术后 7d vs 术后 3mo	48.033	1.8753	656.083	<0.001
泪膜破裂时间	术前 vs 术后 7d	3.500	0.4893	51.160	<0.001
	术前 vs 术后 3mo	21.167	0.3803	32.458	<0.001
	术后 7d vs 术后 3mo	1.333	0.2802	22.642	<0.001

($\chi^2 = 17.010, 6.500, 829.489, 52.230, P < 0.001, = 0.039, < 0.001, < 0.001$)。其中,术后 3mo 时的最佳矫正远视力优于术前和术后 7d,差异均有统计学意义($P < 0.05$);术后 3mo 时的散光度小于术前,差异有统计学意义($P = 0.043$);与术前相比,术后 7d,3mo 时角膜最薄点厚度差异均有统计学意义($P < 0.001$);与术前相比,术后 7d 时泪膜破裂时间变短,随后尽管有所恢复,但依然小于术前,差异均有统计学意义($P < 0.001$),见表 1、2。两组手术前后不同时间点 Km 无时间差异性($\chi^2 = 0.437, P = 0.804$)。此外,手术前后不同时间点两组最佳矫正远视力、散光度、Km、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间比较,均无组间差异性($\chi^2 = 0.515, 0.112, 1.227, 0.041, 0.416, P = 0.473, 0.738, 0.268, 0.839, 0.519$),时间与组间也无交互作用($\chi^2 = 2.134, 0.277, 2.687, 3.973, 0.572, P = 0.344, 0.870, 0.261, 0.137, 0.751$)。

试验组和对照组术后不适感评分分别为 $3.13 \pm 0.99, 3.33 \pm 1.23$ 分,差异无统计学意义($t = 0.764, P = 0.458$)。试验组术后角膜上皮愈合时间($3.20 \pm 0.56d$)比对照组($3.73 \pm 0.96d$)短,差异有统计学意义($t = 2.256, P = 0.041$)。

3 讨论

角膜缘是保障角膜上皮细胞动态平衡的重要部位,对维持角膜透明性和眼表完整性起到了重要作用^[7]。其中,角膜缘 Vogt 栅栏结构区被认为是角膜缘干细胞之所在。各种原因导致的角膜缘干细胞受损和缺乏会引起角膜和

眼表功能障碍^[8]。尽管大量临床研究已经证实 CXL 手术在防治圆锥角膜方面的有效性和安全性^[9],但是依然不能忽视 CXL 手术可能引起的角膜缘损伤。基础研究发现,CXL 具有细胞毒性作用,不仅能够降低角膜缘部位上皮细胞的扩增能力^[10],而且会引起细胞凋亡^[11]。临床研究也有关于 CXL 术后发生角膜缘干细胞失代偿^[12]、角膜上皮延迟愈合^[13]、诱发眼表肿瘤^[14-15]等个别病例的报道,提示 CXL 术中保护角膜缘的重要性。

与以往研究^[1-2]结果相似,本研究中,无论是否采用角膜缘保护技术,患者术后 3mo 时最佳矫正远视力、散光度均优于术前($P < 0.05$);两组术后角膜最薄点厚度均逐渐减小($P < 0.05$);两种 Epi-on CXL 手术均造成术后短期(7d)泪膜破裂时间缩短,尽管在术后中期(3mo)时有所恢复,但依然低于术前水平($P < 0.05$)。本研究试验组所采用角膜缘保护技术未对 Epi-on CXL 手术患者的最佳矫正远视力、散光度、Km、角膜最薄点厚度、泪膜破裂时间、术后不适感方面造成显著影响,说明此种角膜缘保护技术并不能提升 Epi-on CXL 手术治疗圆锥角膜的临床疗效。然而,本研究结果显示此种角膜缘保护技术能够缩短术后角膜上皮愈合时间,提示该技术可能在降低 Epi-on CXL 手术源性损伤、保护角膜缘组织、维护角膜上皮修复能力方面具有重要的保护作用,并能够提高 Epi-on CXL 手术的安全性。

目前国外研究者已经开发和报道了几种 CXL 术中角膜缘保护技术。相比而言,本研究所采用的角膜缘保护技

术具有操作简单、效果确切、成本低廉、器材可重复使用等诸多优点。Lee等^[16]通过动物实验验证 CXL 术中采用一种直径为 9mm 的金属挡圈 (retention ring) 限制核黄素溶液扩散到角膜缘,从而使角膜缘干细胞免于受到 CXL 的损伤。需要强调的是,上述动物实验研究中使用的金属挡圈需要术者手持并施压于眼球,其保护角膜缘的原理只是阻止核黄素溶液对角膜缘浸润,并没有在术中对紫外光进行遮挡,因此无法避免术中紫外光辐射性损伤;使用金属挡圈的动物眼角膜发生了较为严重的炎症反应,作者推测可能与核黄素滞留引起过度的交联反应有关,也可能是由于金属挡圈对角膜的压迫引起的。本研究使用的自制不锈钢金属环无需手持,其与角膜表面的贴敷是依靠金属环的自身重量和眼球表面医用透明质酸钠凝胶的黏附作用。术中该金属环能够阻止核黄素溶液渗漏到角膜缘和结膜囊;由于该金属环具有一定的宽度,所以能够托起足够的核黄素溶液覆盖住裸露的角膜表面;该金属环的宽度能够遮挡角膜缘,从而保护角膜缘免受紫外线的直接照射。本研究未发现试验组出现 Lee 等^[16]在其动物实验中发生的比对照组更为严重的炎症反应,我们推测由于本研究所使用的金属环不需要手持和施压,因而可能对眼部的刺激性较小。

Jeyalatha 等^[17]在离体人眼实验中使用了一种聚甲基丙烯酸甲酯制成的透明遮挡环,发现该遮挡环能够保护角膜缘干细胞免受 CXL 术中紫外线的辐射损伤。Bilgihan 等^[18]采用角膜接触镜中央打孔的方法制作了一种简易的角膜缘遮挡环,并使用激光照度计检测证实了该中央打孔的角膜接触镜能够有效阻断紫外线的穿透,但是没有在其研究中提及该方法的临床应用效果。与以上两种术中角膜缘保护技术相比,本研究使用的保护技术具有以下可能的优势:本研究使用的金属环不仅遮光更彻底,而且具有一定的重量,能够稳定地放置在角膜上,不容易受到眼球自主运动的影响而发生移动;除了金属环自身重量的作用之外,医用透明质酸钠凝胶能够更好地封闭金属环与角膜之间的间隙,有效防止核黄素溶液渗漏到角膜缘,进而可以避免核黄素溶液中化学促渗剂对角膜缘的毒性损伤,因此尤其适合在 Epi-on CXL 手术中使用。此外,已有研究证实透明质酸钠本身也能够降低化学渗透剂 EDTA 对角膜上皮细胞造成的氧化损伤^[19]。因此,本研究中使用的角膜缘保护技术比以往研究中提及的金属挡圈技术、聚甲基丙烯酸甲酯环技术和中央打孔的角膜接触镜技术等更具临床推广价值。

本研究的主要不足之处在于病例数较少、随访时间较短,因此除了术后角膜上皮愈合时间外,未发现试验组和对照组更多的差异。然而,由于 CXL 手术是一项较为安全的手术技术,其本身发生角膜缘干细胞损伤相关的临床病例较少,所以术中角膜缘保护技术的重要作用可能很难在临床研究中显现出来。此外,本研究仅对该角膜缘保护技术的临床疗效进行了分析,未开展在角膜缘细胞活性、细胞形态、核黄素浸染程度等方面的基础性研究来加以佐证。今后我们将继续深入研究,不仅努力收集和纳入更多的病例,延长随访时间,并且对以上几种术中角膜缘保护技术进行深入比较,以期望为广大手术医师提供更多的临床应用参考。

总之,本研究中所采用的术中角膜缘保护技术能够缩短 Epi-on CXL 术后角膜上皮愈合时间,初步证实了该术中角膜缘保护技术在 Epi-on CXL 手术中应用的可行性和安全性,其长期的临床应用价值有待今后进一步研究加以验证。

参考文献

- 1 王萌萌,董坤峰,张军红,等.运用双通道视觉质量分析系统评估角膜交联手术后的客观视觉质量.国际眼科杂志 2016; 16(6): 1196-1198
- 2 孙明胜,张丰菊.紫外线 A-核黄素角巩膜胶原交联术的研究进展.中华眼科杂志 2018; 54(12): 948-953
- 3 Bode AM, Roh E. Are FDA-approved sunscreen components effective in preventing solar UV-induced skin cancer? *Cells* 2020; 9(7): E1674
- 4 Cristaldi M, Olivieri M, Lupo G, et al. N-hydroxymethylglycinate with EDTA is an efficient eye drop preservative with very low toxicity: an *in vitro* comparative study. *Cutan Ocul Toxicol* 2018; 37(1): 71-76
- 5 Abdel-Radi M, Eldaly Z, Abdelmotaal H, et al. Correlation between corneal demarcation line depth in epithelium-off and trans-epithelium accelerated corneal cross linking and keratoconus progression. *Int J Ophthalmol* 2020; 13(6): 907-912
- 6 Lim L, Lim EWL. A review of corneal collagen cross-linking - current trends in practice applications. *Open Ophthalmol J* 2018; 12: 181-213
- 7 刘祖国,王国良,李程.努力开创角膜缘干细胞临床研究新局面.中华实验眼科杂志 2018; 36(11): 822-825
- 8 李典睿,周善璧.角膜缘干细胞研究新进展.国际眼科杂志 2019; 19(1): 63-65
- 9 Li WW, Wang B. Efficacy and safety of transepithelial corneal collagen crosslinking surgery versus standard corneal collagen crosslinking surgery for keratoconus: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Ophthalmol* 2017; 17(1): 262
- 10 Moore JE, Schirolli D, Moore CB. Potential effects of corneal cross-linking upon the limbus. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 5062064
- 11 Shetty R, Vunnavu KP, Dhamodaran K, et al. Characterization of corneal epithelial cells in keratoconus. *Transl Vis Sci Technol* 2019; 8(1): 2
- 12 Kling S, Hammer A, Conti A, et al. Corneal cross-linking with riboflavin and UV-A in the mouse cornea *in vivo*: morphological, biochemical, and physiological analysis. *Transl Vis Sci Technol* 2017; 6(1): 7
- 13 Rana M, Lau A, Aralikatti A, et al. Severe microbial keratitis and associated perforation after corneal crosslinking for keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye* 2015; 38(2): 134-137
- 14 Yam JC, Kwok AK. Ultraviolet light and ocular diseases. *Int Ophthalmol* 2014; 34(2): 383-400
- 15 Krumeich JH, Brand-Saberi B, Chankiewicz V, et al. Induction of neoplasia after deep anterior lamellar keratoplasty in a CXL-treated cornea. *Cornea* 2014; 33(3): 313-316
- 16 Lee HK, Ryu JS, Jeong HJ, et al. Protection of corneal limbus from riboflavin prevents epithelial stem cell loss after collagen cross-linking. *J Ophthalmol* 2018; 2018: 6854298
- 17 Jeyalatha V, Jambulingam M, Gupta N, et al. Study on polymethylmethacrylate ring in protecting limbal stem cells during collagen cross-linking. *Ophthalmic Res* 2013; 50(2): 113-116
- 18 Bilgihan K, Yuksel E. A new simple corneal limbal protection technique during corneal collagen cross-linking. *Eye Contact Lens* 2015; 41(2): 130-131
- 19 Ye J, Wu H, Wu Y, et al. High molecular weight hyaluronan decreases oxidative DNA damage induced by EDTA in human corneal epithelial cells. *Eye (Lond)* 2012; 26(7): 1012-1020