

# 角膜胶原交联术治疗圆锥角膜的研究进展

李金晶, 薛劲松, 蒋沁, 徐英男

引用: 李金晶, 薛劲松, 蒋沁, 等. 角膜胶原交联术治疗圆锥角膜的研究进展. 国际眼科杂志 2020;20(3):477-480

作者单位: (210000) 中国江苏省南京市, 南京医科大学眼科医院

作者简介: 李金晶, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病。

通讯作者: 薛劲松, 男, 主任医师, 硕士研究生导师, 副院长, 研究方向: 角膜病. 25068411@qq.com

收稿日期: 2019-04-23 修回日期: 2020-02-18

## 摘要

角膜胶原交联术 (corneal collagen cross-linking, CXL) 是一种治疗原发或继发性圆锥角膜、感染性角膜炎及大泡性角膜病变等角膜疾病的新疗法。它利用光化学原理来增加角膜强度, 阻止角膜病变进展, 现已被广泛应用于临床。目前临床上普遍采用的方法多为经典去上皮角膜交联 (dresden protocol), 但经典方法耗时较长, 可能存在角膜上皮愈合不良、感染等术后并发症。近年来多项研究对经典方式进行了改良, 例如核黄素液浸入角膜的多种方式选择, 增加紫外光照射能量以缩短照射时间的加速交联以及跨上皮角膜交联等。本文就非经典角膜胶原交联术在治疗圆锥角膜的研究作一综述。

关键词: 角膜胶原交联; 圆锥角膜; 核黄素

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.3.15

## Research progress of corneal collagen cross - linking in the treatment of keratoconus

Jin-Jing Li, Jin-Song Xue, Qin Jiang, Ying-Nan Xu

The Affiliated Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jin-Song Xue. The Affiliated Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. 25068411@qq.com

Received: 2019-04-23 Accepted: 2020-02-18

## Abstract

• Corneal collagen cross - linking (CXL) is a new treatment for corneal diseases such as primary or secondary keratoconus, infectious keratitis and bullous keratopathy. CXL is used to increase the biomechanical stability of the stromal tissue and prevent the progression of keratopathy based on Laws of Photochemistry, which is widely used in clinical practice at present. Currently, commonly used method in clinical practice is the traditional "epithelium-off" corneal cross-linking method (dresden protocol), but the classical method takes a long

time, and there may be postoperative complications such as poor healing of the corneal epithelium and infection. In recent years, a number of studies have improved the classical method, such as the choice of riboflavin solution immersed in the cornea, increasing the energy of ultraviolet light to shorten the accelerated cross-linking time of irradiation and cross-epithelial CXL. Thus, this paper reviews clinical and basic researches of the current use of non-classical CXL in the treatment of keratoconus.

• KEYWORDS: corneal collagen cross - linking; keratoconus; riboflavin

Citation: Li JJ, Xue JS, Jiang Q, et al. Research progress of corneal collagen cross-linking in the treatment of keratoconus. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(3):477-480

## 0 引言

角膜胶原交联术 (corneal collagen cross-linking, CXL) 是一种针对原发或继发性圆锥角膜等角膜疾病的新疗法<sup>[1]</sup>。角膜基质主要由大量排列规则的胶原纤维组成, 正常情况下, 这些胶原纤维与相邻胶原之间存在着相互连接, 为角膜基质提供一定的机械强度, 而在圆锥角膜患者中, 胶原间的相互连接减少, 角膜机械强度减弱。Wollensak 等<sup>[2]</sup>首次提出, 通过角膜胶原交联治疗可使角膜强度增加, 形态稳定, 有效阻止或延缓圆锥角膜的进展。此外, 胶原交联还可增加胶原纤维的直径, 提高角膜基质对多种降解酶的抵抗作用。

核黄素作为光敏剂, 在角膜胶原交联中起到非常重要的作用: 核黄素在 370nm 波长的紫外线照射下会产生单线态氧和活性氧, 后者与各种分子间相互反应, 诱导胶原纤维的氨基之间发生化学交联反应, 进而增加角膜机械强度、滞后量、阻力因子等生物力学特性。核黄素还可以使紫外线的能量在透过角膜时得以衰减, 使角膜组织对紫外线的吸收率从 32% 提到至 95%<sup>[3]</sup>, 在核黄素存在时仅有 7% 的 UVA 能通过角膜<sup>[4]</sup>。

## 1 角膜胶原交联术的临床应用及进展

角膜胶原交联术主要包括两个步骤, 一是将核黄素渗透到角膜胶原内; 二是紫外线照射治疗。通过改变核黄素的浸入方式和照射能量等条件可对经典的去上皮角膜胶原交联术做出改良。

1.1 加速交联法 经典去上皮角膜胶原交联通常在去上皮后使用 0.1% 核黄素液滴眼, 370nm 波长的 UVA 照射 30min, 辐照度为 3mW/cm<sup>2</sup> (能量剂量 5.4J/cm<sup>2</sup>)。已有文献证实, 经典去上皮角膜胶原交联可有效稳定圆锥角膜的进展, 提高患者视力<sup>[5-8]</sup>。但经典去上皮角膜交联方法耗时较长, 存在患者依从性不佳等问题。Bunsen-Roscoe 互易定律指出, 无论施加的辐照度和时间如何, 紫外光的光化学生物效应与所传递的总能量剂量成正比<sup>[9]</sup>。加速交

联法(accelerated CXL)作为一种改良方式,即在UVA交联的背景下,递送相同能量剂量,通过施加更高的辐照度来缩短治疗时间,加速交联在阻止角膜扩张的进展方面是安全有效的<sup>[10]</sup>。

大量临床文献对不同能量强度和不同照射时间的加速交联方案进行了对比。Jeremy等<sup>[11]</sup>在对体外组织的角膜交联实验中发现,Bunsen-Roscoe互易定律仅在照射强度40~45mW/cm<sup>2</sup>以内有效,照射时间需超过2min。实验设计包含了10组不同的能量强度和照射时间的对比,总能量剂量均为5.4J/cm<sup>2</sup>,与经典方法一致。当加速交联的能量强度在40~45mW/cm<sup>2</sup>以内时,可以观察到与经典交联等效的杨氏模量增加。对比研究使用6mW/cm<sup>2</sup>照射15min、9mW/cm<sup>2</sup>照射10min、20mW/cm<sup>2</sup>照射4.5min、34mW/cm<sup>2</sup>照射2.65min、45mW/cm<sup>2</sup>照射2min的5组实验中,杨氏模量增加值与3mW/cm<sup>2</sup>照射30min的经典交联法相似,说明以上加速交联方案可达到与经典交联治疗的类似效果;而当能量强度超过50mW/cm<sup>2</sup>,即照射时间短于2min时,并没有统计学意义上杨氏模量的增加。证明能量强度并非越高越好,而是有一定的限度。这可能是由于加速交联中高通量的照射治疗会影响氧气在基质中的渗透,从而改变经典交联中基质共价键合成的有效性和治疗的生物力学效率<sup>[12]</sup>。氧气在角膜中的分布并不均匀,角膜各层的透氧性不同,氧气通过角膜组织层的扩散是一个时间依赖的过程<sup>[13]</sup>。Kamaev等<sup>[14]</sup>在经典交联法中测量了100μm深度下氧气的渗透作用,发现在前10~15s,该层的氧气浓度迅速下降,而在10min后随着氧气在组织中的渗透扩散,氧浓度逐渐上升。加速交联缩短了操作时间,从而减少了氧在角膜中的渗透时间,影响了交联反应的有效性。

Tomita等<sup>[15]</sup>使用30mW/cm<sup>2</sup>强度照射3min的加速交联在远视力及角膜曲率扁平化方面可达到与经典交联相似的效果。Kymionis等<sup>[16]</sup>使用9mW/cm<sup>2</sup>强度照射10min发现经典交联的治疗深度大于加速交联。当总能量剂量调整为126J/cm<sup>2</sup>时,使用9mW/cm<sup>2</sup>强度照射14min<sup>[17]</sup>和18mW/cm<sup>2</sup>强度照射7min<sup>[18]</sup>均观察到与经典治疗的交联线深度无差异,证明不同总能量剂量条件下的加速治疗方案也可以达到与经典交联相似的效果。

**1.2 跨上皮交联** 经典角膜胶原交联术在手术中需要去除中央8mm范围内的角膜上皮,术后有可能出现角膜上皮愈合迟缓、haze、角膜感染的风险,且上皮的缺失可能导致患者术后2~3d出现角膜刺激症状。

Lorelei等<sup>[19]</sup>首次提出了使用丁卡因破坏角膜上皮细胞间的紧密连接,而保留角膜上皮的交联方法(trans epithelial corneal collagen cross-linking, TECXL)。术前使用丁卡因和核黄素溶液每隔5min滴眼一次,持续15min,两种溶液滴眼之间等待1min。使用丁卡因滴眼替代去上皮操作可使核黄素进入基质,使大分子穿透上皮细胞。术中则将丁卡因和核黄素溶液浸透在两块海绵上,每10min将用丁卡因浸泡的海绵施于角膜表面,同时每3min将用核黄素浸泡的海绵施于角膜表面,UVA照射(3.0mW/cm<sup>2</sup>,370nm),整个过程持续30min。

Filippello等<sup>[20]</sup>设计了角膜表面放置硅胶环,加长核黄素溶液在角膜表面的滞留时间,并以氨基丁三醇和EDTA作为核黄素促渗剂,治疗双眼发病的20例角膜厚度为380~444μm的圆锥角膜患者,术后未出现角膜基质

混浊、感染等副作用,患者的角膜刺激症状大大减轻。术后9mo OCT检查发现Bowman氏膜以下的基质术后较术前增厚近100μm,术后18mo裸眼视力、最佳矫正视力、模拟角膜K值、角膜顶点屈光力以及高阶像差等指标均有明显改善。

Wollensak等<sup>[21]</sup>对14只金吉拉兔分别施行跨上皮角膜胶原交联和经典去角膜上皮胶原交联,结果显示去上皮组杨氏模量增加102.45%,低价促渗剂的跨上皮组杨氏模量增加21.30%。组织形态学显示在去上皮组角膜全层都存在细胞和内皮的缺失,而跨上皮组在接近200μm内有角膜细胞不均匀的缺失。该结果表明促渗剂联合跨上皮胶原交联改变角膜生物力学的效果仅为经典去上皮胶原交联的近1/5,分析认为即使增加了促渗剂,但核黄素在角膜内的弥散程度还是明显弱于去上皮组。

除促渗剂帮助核黄素导入角膜基质外,采用低渗核黄素溶液或者等渗核黄素溶液离子导入的方式是临床上开展的另一种跨上皮交联的方法。离子导入角膜胶原交联术(iontophoresis corneal collagen cross linking, I-CXL)是利用电泳效应使携带核黄素的缓冲盐在电场中运动,促进核黄素在角膜中弥散,增加基质核黄素,从而增加交联效应。离子导入方法为将电极贴置于前额正中,罩杯置于角膜正中,抽吸负压吸引空针使罩杯吸附于角膜表面,将核黄素注入罩杯内,通电后导入核黄素。Mastropasqua等<sup>[22]</sup>观察比较了低渗CXL与I-CXL 5min组、I-CXL 10min组之间的早期疗效。低渗组采用低渗核黄素点眼30min,离子导入组分别导入5、10min,导入结束后使用与低渗CXL相同的紫外光照射仪,能量强度为10mW/cm<sup>2</sup>,照射时间为9min。术后1wk观察,低渗CXL组分界线深度为152.7±42.9μm,I-CXL 5min组分界线深度为213.6±42.3μm,I-CXL 10min组分界线深度为237.0±46.4μm;随访6mo后,UDVA、CDVA、Kmax在三组中基本保持稳定或有一定改善,其中以I-CXL 10min组的CDVA变化最显著,这可能是由于离子导入组中的角膜基质核黄素浓度较低渗组高。

**1.3 CXL在薄角膜中的应用** UVA照射在核黄素的保护下,角膜细胞毒性辐照度水平仅为0.5mW/cm<sup>2</sup>,而无核黄素保护下的UVA照射,细胞毒性辐照度高为5mW/cm<sup>2</sup>,前者仅为后者的十分之一。在人角膜中使用核黄素-UVA联合方法(表面辐照度为3mW/cm<sup>2</sup>)可将角膜损伤深度控制在角膜前300μm厚度以内<sup>[23]</sup>。Wollensak等<sup>[2]</sup>在一项动物实验研究中表明,角膜内皮细胞毒性UVA剂量低于0.65J/cm<sup>2</sup>是行核黄素-UVA治疗的安全剂量,在厚度大于350μm的角膜表面,使用的UVA照射剂量为3.6J/cm<sup>2</sup>(3mW/cm<sup>2</sup>,照射30min),此时到达角膜内皮细胞的UVA照射剂量仅为0.54J/cm<sup>2</sup>,并认为该剂量是能产生有效机械加强效果并增加对酶消化的抵抗力的最低剂量,350μm也被认为是角膜胶原交联术的角膜安全厚度<sup>[24]</sup>。

经典角膜胶原交联术的适应证为去除角膜上皮后角膜厚度大于400μm,源于紫外线照射对角膜内皮的损伤,但是在临床上很多圆锥角膜及LASIK术后角膜膨隆患者的角膜厚度达不到这一要求。为避免这种限制,Hafezi等<sup>[25]</sup>针对薄角膜患者提出另一种替代治疗方案,即低渗核黄素溶液配合UVA照射治疗。使用低渗核黄素溶液可使角膜厚度增加到400μm,可治疗角膜最小基质厚度为



320 $\mu\text{m}$ <sup>[26-27]</sup>,因此在核黄素-UVA 处理之前应对角膜厚度进行测量,以确定不适合的病例。

分界线表示浅层交联区与深层未交联区的界限,代表圆锥角膜 CXL 治疗中的有效深度,这可以作为观测交联深度的重要指标之一。在经典交联治疗后最早 2wk 左右,可以发现在角膜 300 $\mu\text{m}$  处出现一条分界线,在裂隙灯处或使用前段光学相干断层扫描 (AS-OCT) 检测角膜基质分界线,其在交联后的前 3mo 最明显。Caporossi 等<sup>[28]</sup>对人眼交联术后进行了共聚焦显微镜观察,通过识别 270~330 $\mu\text{m}$  深度的明显垂直和横向过渡区域,检测到有效治疗深度,在分界线之前观察到角质形成细胞凋亡。发现前基质层(手术治疗区域)表现为仅有少量角膜细胞核和水肿反射率,而后基质层(未治疗区域)显示常规角膜细胞群和正常反射率。治疗后基质的角质细胞再增殖于术后 1mo 开始,并于术后 6mo 结束,术后 6mo 角膜内皮显示出规则的形态。苏云娟等<sup>[29]</sup>在对 CXL 术后患者角膜微结构变化的观察中发现,术后 12mo 基质细胞数量几乎恢复至术前水平,术后角膜基质层后部细胞和内皮细胞的大小及形态未受影响。

基质线的深度取决于核黄素溶液的浓度和 UVA 的强度。已有文献指出,根据扩散梯度,核黄素浓度随着角膜深度的增加而呈线性下降<sup>[30]</sup>。在基质前部浓度最高,施用核黄素 30min 后浓度达到动态平衡,并在深层基质中呈线性降低<sup>[31]</sup>。CXL 效应主要取决于 UVA 照射的强度,在较小程度上取决于核黄素的浓度,65%的 UVA 在角膜基质前 200 $\mu\text{m}$  内被吸收,所以在角膜基质前 200~250 $\mu\text{m}$  中硬化效果最大<sup>[32]</sup>。

Gu 等<sup>[33]</sup>观察了早期薄角膜病变患者施行该术后的角膜并发症及其变化。术中使用的低渗核黄素溶液是通过生理盐水稀释 0.5% 维生素 B2-核黄素-5-磷酸所得。去上皮后采用 370nm 波长的 UVA 照射直径 9mm 区域内的角膜,能量密度为 3.0mW/cm<sup>2</sup>。低渗核黄素每隔 3min 施用于角膜,持续 30min,以维持核黄素在角膜基质中的饱和度。纳入患者 6 例 8 眼的数据进行研究分析:术前的平均角膜厚度(MTCT)为 408.5 $\pm$ 29.0 $\mu\text{m}$ ,去上皮后 MTCT 为 369.8 $\pm$ 24.8 $\mu\text{m}$ 。施用低渗核黄素后,MTCT 增加至 445.0 $\pm$ 26.5 $\mu\text{m}$ ,与术前参数相差不大。术后 3mo 圆锥角膜顶端的平均 K 值下降,BCVA 平均值增加,平均内皮细胞密度(ECD)下降,未发现角膜基质感染及其他并发症。

有文献指出,为了保护内皮免受非常高的照射强度,在角膜厚度小于 400 $\mu\text{m}$  表面上最薄的部位,不去除上皮细胞的跨上皮角膜交联<sup>[34]</sup>。但可能导致没有足量的核黄素渗透入角膜深部,从而不会形成明确的交联分界线。另有文献提出,可将核黄素浓度增加至 0.2%,使 UVA 在角膜前基质更加充分地吸收,从而减少对内皮细胞的损伤<sup>[18]</sup>。

**1.4 CXL 联合手术** 准分子激光上皮瓣下角膜磨镶术(laser *in situ* keratomileusis, LASIK)是目前常用于激光矫正视力的手术方法之一,首先通过飞秒激光或使用角膜板层刀制作一个角膜瓣,掀开后在暴露的角膜基质床上进行准分子激光切削,以达到矫正视力的目的。LASIK 术具有精确度高、安全有效等优点,但同时也会存在屈光回退和术后角膜膨隆等并发症,影响患者视觉质量。因此,有学者提出应用联合角膜交联术对 LASIK 术后角膜膨隆进行治疗,旨在延缓角膜膨隆病情进展的同时对患眼进行屈光

重建,从而提高患者的视觉质量。

角膜胶原交联术主要作用于角膜前基质层,即是 LASIK 术中角膜被切削的部分。已有研究证实,角膜交联术对于治疗 LASIK 术后角膜膨隆具有肯定的效果<sup>[35-36]</sup>,联合治疗术后 UCVA 显著提高,Kmax 值显著降低,证明了该方法的有效性。在与单纯行 LASIK 术的对照中发现,CXL 联合 LASIK 手术对于屈光不正的患者具有更好的疗效,优于单纯 LASIK 治疗组<sup>[37]</sup>。在对近视患者的预防性治疗中,CXL 联合 LASIK 术可以有效地预防屈光回退和潜在的角膜扩张<sup>[36]</sup>,且术后角膜内皮细胞数量与术前相比并没有统计学差异,证明了该手术方法的安全性。但是当前对于联合手术的研究较少,观察时间较短,其长期疗效与生物力学的评价有待进一步的研究。

## 2 总结及展望

角膜胶原交联术经典方法耗时较长,可能存在角膜上皮愈合不良、感染等术后并发症,近年来已有多项研究对经典方式进行了改良。

加速交联法可取得与经典去上皮法相同的治疗深度,但总照射剂量的个性化选择以及照射能量和照射时间的优化匹配,以及在安全性和有效性上还需要进一步的长期观察。为了提高核黄素的浸润效率以及加快核黄素的浸润时间,各种促渗剂及促渗方法的运用实现了保留角膜上皮的跨上皮角膜胶原交联,但是目前其改变角膜生物力学的效果与经典去上皮角膜胶原交联还有一定的差距,并不作为圆锥角膜的常规治疗方案。该治疗方法使角膜细胞的损伤位于角膜前 200 $\mu\text{m}$  基质,减少了去上皮所致的术后并发症,如何提高交联的疗效对于跨上皮角膜交联还需要长期进一步改良和优化。对角膜厚度薄于 400 $\mu\text{m}$  的圆锥角膜患者多采用低渗核黄素配合 UVA 治疗,如何进行有效的角膜交联,既保护好内皮细胞,又能增强角膜的生物力学,延缓圆锥角膜的病情,为将来验配 RGP 或选择深板层角膜移植提供有力的支撑,也是角膜胶原交联改良术式未来发展的趋势。CXL 联合 LASIK 手术治疗可以有效预防单纯 LASIK 术后出现的角膜扩张和屈光回退等并发症,为角膜交联手术与其他手术方式的联合应用提供了新的治疗思路。

## 参考文献

- 1 Toprak I, Yaylali V, Yildirim C. Visual, Topographic, and Pachymetric Effects of Pediatric Corneal Collagen Cross-linking. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2017;54(2):84-89
- 2 Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, et al. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg* 2003;29(9):1786-1790
- 3 Mas TV, MacGregor C, Jayaswal R, et al. A review of keratoconus: diagnosis, pathophysiology, and genetics. *Surv Ophthalmol* 2017;62(6):770-783
- 4 Godefrooij DA, de Wit GA, Uiterwaal CS, et al. Age-specific incidence and prevalence of keratoconus: a nationwide registration study. *Am J Ophthalmol* 2017;175(12):169-172
- 5 Akbar B, Intisar-Ul-Haq R, Ishaq M, et al. Transepithelial corneal crosslinking in treatment of progressive keratoconus: 12 months' clinical results. *Pak J Med Sci* 2017;33(3):570-575
- 6 Heikal MA, Tawfik ST, Ayser F, et al. Efficacy of transepithelial corneal collagen crosslinking for keratoconus: 12-month follow-up. *Clin Ophthalmol* 2017; 11(1):767-771

7 Daniel G, Mustapha EK, Nienke S, *et al.* Higher order optical aberrations and visual acuity in a randomized controlled trial comparing transepithelial versus epithelium-off corneal crosslinking for progressive keratoconus. *Clin Ophthalmol* 2017; 11(1):1931-1936

8 Rush SW, Rush RB. Epithelium-off versus transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive corneal ectasia; a randomised and controlled trial. *Br J Ophthalmol* 2017; 101(4):503-508

9 Schumacher S, Oeftiger L, Mrochen M. Equivalence of biomechanical changes induced by rapid and standard corneal cross-linking, using riboflavin and ultraviolet radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(12):9048-9052

10 Carla S, Medeiros MD. Accelerated corneal collagen crosslinking: Technique, efficacy, safety, and applications. *J Cataract Refract Surg* 2016; 42(12):1826-1835

11 Jeremy W, Silvia S, Eberhard S. The Efficacy of Corneal Cross-Linking Shows a Sudden Decrease with Very High Intensity UV Light and Short Treatment Time. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(2):1176-1180

12 Olivier R, Arthur H, David T, *et al.* The Biomechanical Effect of Corneal Collagen Cross-Linking (CXL) With Riboflavin and UV-A is Oxygen Dependent. *Transl Vis Sci Technol* 2013; 2(7):6

13 Fatt I, Freeman RD, Lin D. Oxygen tension distributions in the cornea: a re-examination. *Exp Eye Res* 1974; 18:357-365

14 Kamaev P, Friedman MD, Sherr E, *et al.* Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(4):2360-2367

15 Tomita M, Mita M, Huseynova T. Accelerated versus conventional corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 2014; 40(6):1013-1020

16 Kymionis GD, Tsoularnas KI, Grentzelos MA, *et al.* Corneal stroma demarcation line after standard and high-intensity collagen crosslinking determined with anterior segment optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg* 2014; 40(5):736-740

17 Kymionis GD, Tsoularnas KI, Grentzelos MA, *et al.* Evaluation of corneal stromal demarcation line depth following standard and a modified-accelerated collagen cross-linking protocol. *Am J Ophthalmol* 2014; 158(4):671-675

18 Kymionis GD, Tsoularnas KI, Liakopoulos DA, *et al.* Corneal Stromal Demarcation Line Depth Following Standard and a Modified High Intensity Corneal Cross-linking Protocol. *J Refract Surg* 2016; 32(4):218-222

19 Lorelei LV, Brian S, Boxer W. Factors that correlate with improvement in vision after combined Intacs and trans-epithelial corneal crosslinking. *Br J Ophthalmol* 2010; 94(12):1597-1601

20 Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: Bilateral study. *J Cataract Refract Surg* 2012; 38(2):283-291

21 Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract*

*Refract Surg* 2009; 35(3):540-546

22 Mastropasqua L, Calienno R, Mattei PA, *et al.* Corneal cross-linking; intrastromal riboflavin concentration in iontophoresis-assisted imbibition versus traditional and transepithelial techniques. *Am J Ophthalmol* 2014; 157(3):623-630

23 Wollensak G, Spoerl E, Reber F, *et al.* Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment *in vitro*. *Eye (Lond)* 2004; 18(7):718-722

24 Wollensak G. Histological changes in human cornea after cross-linking with riboflavin and ultraviolet A. *Acta Ophthalmol* 2010; 88(2):e17-e18

25 Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, *et al.* Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35(4):621-624

26 Sun L, Li M, Zhang X, *et al.* Transepithelial accelerated corneal collagen cross-linking with higher oxygen availability for keratoconus: 1-year results. *Int Ophthalmol* 2018; 38(6):2509-2517

27 Subasinghe SK, Ogbuehi KC, Dias GJ. Current perspectives on corneal collagen crosslinking (CXL). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018; 56(8):1363-1384

28 Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, *et al.* Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32(5):837-845

29 苏云娟, 陈铁红, 卜立敏, 等. 圆锥角膜行去上皮角膜胶原交联术后角膜微结构的变化. *国际眼科杂志* 2019; 19(4):649-653

30 Cui L, Huxlin KR, Xu L, *et al.* High-resolution, noninvasive, twophoton fluorescence measurement of molecular concentrations in corneal tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(5):2556-2564

31 Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, *et al.* Safety of UVA-riboflavin crosslinking of the cornea. *Cornea* 2007; 26(6):385-389

32 Raiskup F, Spoerl E. Corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A. I. Principles. *Ocul Surf* 2013; 11(2):65-74

33 Gu SF, Fan ZS, Wang LH, *et al.* A short-term study of corneal collagen cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution in keratoconic corneas. *Int J ophthalmol* 2015; 8(1):94-97

34 Kaya V, Utine CA, Yilmaz OF. Efficacy of corneal collagen crosslinking using a custom epithelial debridement technique in thin corneas: a confocal microscopy study. *J Refract Surg* 2011; 27(6):444-450

35 Cassagne M, Laurent C, Rodrigues M, *et al.* Iontophoresis transcorneal delivery technique for transepithelial corneal collagen crosslinking with riboflavin in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(2):594-603

36 孙红燕, 刘苏冰, 马小倩. 角膜胶原交联联合准分子激光原位角膜磨镶术(LASIK)矫正屈光不正的临床观察. *眼科新进展* 2017; 37(10):970-972, 975

37 胡雅斌, 周跃华, 杜娟, 等. 准分子激光原位角膜磨镶术联合快速角膜交联术矫正薄角膜近视合并散光的早期疗效. *中华实验眼科杂志* 2016; 34(5):460-465