

Островский Д.С.<sup>1,2</sup>, Борзенко С.А.<sup>2,3</sup>, Сабурова И.Н.<sup>1</sup>,  
Малюгин Б.Э.<sup>2</sup>, Мушкова И.А.<sup>2</sup>, Репин В.С.<sup>1,2</sup>

## Модель культуры кератоцитов человека в изучении биосовместимости полимерных материалов для роговичных имплантатов и биоискусственной роговицы

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАН, 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> ФГАУ «МНТК «Микрохирургии глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России;  
127486, г. Москва, Россия, Бескудниковский бульвар, 59А

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им.А.И. Евдокимова» Минздрава России;  
127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1.

Предложена модель *in vitro* изучения биологической совместимости и токсичности полимерных материалов на культурах клеток стромы роговицы человека — кератоцитах (КЦ). **Цель исследования** — изучение возможности использования выделенных культур кератоцитов донора-трупа человека для оценки биосовместимости полимерных материалов. **Методика.** Из роговицы трупного донорского глаза получали первичную культуру КЦ и пересевали до 4-го пассажа. Фенотип КЦ подтверждали методом иммуноцитохимического окрашивания с выявлением основных клеточных маркеров. КЦ культивировали в присутствии образцов полимерных материалов — четырех модификаций бисфенол-А-глицидилметакрилата (бис-ГМА) по 24 образца каждого (4 экспериментальные группы). В качестве группы сравнения 1 использовали образцы из полиметилметакрилата (ПММА) идентичной геометрии (24 образца), группа сравнения 2 — КЦ, культивированные по стандартной методике без полимерных образцов (24 образца). КЦ в каждой группе распределяли по 24 лункам культурального планшета, культивировали на протяжении 6 сут., ежедневно КЦ извлекали из четырех лунок в каждой группе и подсчитывали. Анализируя динамику клеточного роста и качественное состояние образцов полимеров, делали вывод о типе биологической совместимости исследуемых материалов. **Результаты.** Все кривые клеточного роста имели восходящую S-образную форму, количество клеток статистически значимо увеличивалось со 2-х по 4-е сут. и замедлялось к 6-м сут. Среди исследованных материалов бис-ГМА № 3 проявил наименьшую способность обеспечивать адгезию культивируемых клеток, бис-ГМА № 1 и № 2 — наибольшую. Результаты статистически значимы. **Заключение.** Проведенные исследования показали высокую информативность использования предложенной методики для определения биологической совместимости искусственных материалов. Исходя из полученных результатов, все исследуемые материалы были отнесены к числу биологически активных. Образцы исследуемых материалов в клеточной культуре статистически значимо влияют на уровень клеточной адгезии и степень пролиферации.

**Ключевые слова:** биоискусственная роговица; роговичные имплантаты; культуры кератоцитов; полимерные материалы.

**Для цитирования:** Островский Д.С., Борзенко С.А., Сабурова И.Н., Малюгин Б.Э., Мушкова И.А., Репин В.С. Модель культуры кератоцитов человека в изучении биосовместимости полимерных материалов для роговичных имплантатов и биоискусственной роговицы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(2): 129—135.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.02.129-135

**Для корреспонденции:** Островский Дмитрий Сергеевич, аспирант лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП, e-mail: dmitriy.ostrovskiy@gmail.com

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила** 05.03.2018

Ostrovskiy D.S.<sup>1,2</sup>, Borzenok S.A.<sup>1,3</sup>, Saburina I.N.<sup>2</sup>, Malyugin B.E.<sup>2</sup>, Mushkova I.A.<sup>2</sup>, Repin V.S.<sup>1,2</sup>

## Biocompatibility of cornea implants from polymeric materials and bio-artificial cornea in a model of human keratocytes cell culture

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia

<sup>2</sup> S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex, Beskudnikovskiy Blvd, 59A, Moscow 127486, Russia

<sup>3</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya Str. 20/1, Moscow 127473, Russian Federation

An *in vitro* model was proposed for studying biocompatibility and toxicity of polymeric materials in cultures of human corneal stromal cells, keratocytes (KCs). **The aim** of the present research was to study a possibility of using cultures of isolated human KCs to assess biocompatibility of polymeric materials. **Materials and methods.** The primary KC culture was obtained from donor's eye cornea and cultured to the 4th passage. The KC phenotype was confirmed by immunocytochemical staining, and the major cell markers were identified. KCs were cultured in the presence of four modifications of bisphenol-A-glycidyl methacrylate (bis-HMA) polymeric materials (24 replicate samples for each modification). Polymethylmethacrylate (PMMA) samples of identical geometry were used in the first comparison group (24 samples). In the second comparison group, KCs were cultured according to a standard procedure without polymer samples (24 wells). In each group, KCs were distributed to 24 wells of the culture plate and cultured for 6 days; cells were counted daily. Based on the dynamics of cell growth and qualitative condition of polymer samples, we made a conclusion about the type of biological compatibility of the materials under study. **Results.** All cell growth curves had an upward S shape; the number of cells increased statistically significantly from day 2 to day 4 ( $p < 0.05$ ) and slowed by day 6 ( $p > 0.05$ ). Among the studied materials, bis-HMA #3 showed the weakest ability ( $p < 0.05$ ) and bis-HMA #1 and #2 — the greatest ability ( $p < 0.05$ ) to provide adhesion of cultured cells. **Conclusion.** The study showed a high informative value of the proposed method for determining biological compatibility of artificial materials. All studied materials were classified as biologically active. Samples of the studied materials statistically significantly affected cell adhesion and proliferation in the cell culture.

**Keywords:** bio-artificial cornea, implantation, keratocytes, polymeric materials.

**For citation:** Ostrovskiy D.S., Borzenok S.A., Saburina I.N., Malyugin B.E., Mushkova I.A., Repin V.S. The study of the biocompatibility of the cornea implants from polymeric materials and the bio-artificial cornea in the model of the human keratocytes cells culture. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(2): 129—135. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2018.02.129-135

**For correspondence:** *Dmitriy S. Ostrovskiy*, Graduate student Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», e-mail: dmitriy.ostrovskiy@gmail.com

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

### Information about authors:

Ostrovskiy D.S., <https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Borzenok S.A., <https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Saburina I.N., <https://orcid.org/0000-0003-2014-2535>

Malyugin B.E., <https://orcid.org/0000-0001-5666-3493>

Received 05.03.2018

## Введение

В настоящее время имеется большой выбор химических материалов, которые могут быть использованы для изготовления имплантируемых офтальмологических изделий — внутрироговичных и интраокулярных линз, внутрироговичных сегментов, склеральных дренажей и др. [1]. При выборе материалов для создания имплантов необходимо учитывать их химические, механические, оптические свойства, а также биологическую совместимость [2].

В зависимости от влияния на биологические свойства все имплантируемые материалы разделяют на 4 группы

— токсичные, когда используемый материал действует токсично на клетки и окружающую ткань; инертные, когда вокруг материала образуется волокнистая капсула; биоактивные, когда инкапсуляция минимальна, или отсутствует и биорезорбируемые, когда материал постепенно разрушается и заменяется тканью. Все перечисленные материалы, кроме токсичных, принято считать биологически совместимыми [3].

Для оценки взаимодействий «имплантат — ткань» в офтальмологии традиционно используют модель имплантации *in vivo*, чаще всего на кроликах. Однако данная модель обладает недостатками — наблюдается значительный разброс индивидуальных физиологических

параметров в популяции животных; интерпретация полученных данных зачастую сложна; эксперименты требуют длительного времени и больших материальных затрат. В последнее время исследования по изучению безопасности и биосовместимости разрабатываемых новых полимерных материалов проводят на моделях органических и клеточных культур *in vitro*. Использование культуры клеток позволяет изучать клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию, экспрессию основных клеточных маркеров. На основании полученных результатов делают вывод о перспективе использования новых материалов [4]. Преимуществами такого подхода являются минимальное время исследования и высокая воспроизводимость результатов.

Традиционное использование *in vitro* известных линий трансформированных клеток человека или клеток, полученных из опухолевых тканей (линии HeLa и 3T3) [5], не отражает поведение нормальных клеток, поэтому создание модели культуры диплоидных клеток человека представляется актуальным. Наиболее перспективной для изучения биобезопасности и биосовместимости новых офтальмологических имплантов является модель первичных культур клеток человека, выделенных из постмортальных тканей. Поскольку кератоциты (КЦ) являются основными клетками стромы роговицы, участвуют в поддержании адекватного водно-солевого транспорта, метаболизма стромы роговицы и репаративных процессов [6] и поддаются культивированию, то именно они являются подходящими кандидатами для создания клеточной модели для исследования биосовместимости *in vitro* полимерных материалов, потенциально пригодных для имплантации в офтальмологии. В доступной литературе представлены единичные работы об использовании КЦ роговицы человека и животных для изучения биосовместимости офтальмоимплантов [4] из полимерных материалов, что обусловило выбор цели настоящего исследования.

**Цель** — изучение возможности использования культур кератоцитов человека, выделенных из постмортальной роговицы, в качестве модели для оценки биосовместимости полимерных материалов, пригодных для роговичной имплантации.

## Методика

### Культура клеток

Для выделения клеток КЦ использовали постмортальные роговицы глаз женщины 43 лет. Время от момента смерти до начала выделения КЦ составляло не более 12 ч. Показатель посмертной жизнеспособности соответствовал степени В согласно методу С.А. Борзенка по адреналиновой пробе.

Выделение и культивирование КЦ осуществлялось по протоколу, предложенному нами ранее [4]. Фрагмент ткани, выделенный из центральной зоны роговицы (16 мм), дезагригировали в растворе коллагеназы II типа при температуре +4°C в течение 15 ч. Полученную суспензию клеток промывали стерильным раствором фосфатного буфера (PBS) и центрифугировали в течение 5 мин при 1400 об./мин. К полученному осадку добавляли полную питательную среду DMEM/F12 (1:1) с добавлением 10% сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота и смеси антибиотиков (пенициллин и стрептомицин по 100 ед./мл). Концентрацию клеток доводили до  $3 \times 10^5$  кл/мл и переносили на чашку Петри (35 мм). Клетки культивировали в стандартных условиях в CO<sub>2</sub>-инкубаторе с концентрацией углекислого газа 5%, атмосферного воздуха 95%, и повышенной влажностью при температуре 37°C. Каждые 3 сут. проводили полную смену среды. Культивирование проводили до 4-го пассажа.

Для подтверждения фенотипа клеток проводили иммуноцитохимическое окрашивание на специфические маркеры КЦ — люмикан, кератокан и кератан-сульфат, неспецифический маркер тканей мезенхимного типа — виментин и специфический маркер миофибробластов — гладкомышечный актин ( $\alpha$ -SMA). КЦ после 3-го пассажа выращивали на покровном стекле до формирования монослоя с 70%-ной конфлюэнтностью, фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида в PBS в течение 10 мин при комнатной температуре, после чего отмывали в растворе PBS. Клетки обрабатывали раствором Тритона X-100 в концентрации 0,25% в PBS в течение 10 мин при комнатной температуре, отмывали PBS и инкубировали с первичными антителами anti-Vimentin в разведении 1:200 (ab92547; Abcam, США), anti-Lumican 1:50 (sc-33785; Santa Cruz, США), anti-SMA 1:50 (sc-53142; Santa Cruz, США), anti-Keratocan 1:50 (sc-66941; Santa Cruz, США), anti-Keratan-sulfate 1:50 (sc-73518; Santa Cruz, США) в темноте при комнатной температуре в течение 60 мин с последующим отмыванием в растворе PBS. Затем инкубировали с вторичными антителами goat anti-rabbit Alexa Fluor 594 (ab150080, Abcam, США) и goat anti-mouse Alexa Fluor 488 (ab150113, Abcam, США). Ядра клеток окрашивали раствором Hoechst 33258 (ПанЭко) в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре. Окрашенные препараты изучали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Fluoview FV10i (Olympus, Япония). Жизнеспособность клеток оценивали в камере Горяева (МиниМед, Россия) по стандартному протоколу с окраской трипановым синим [7].

*Полимерные материалы*

В работе исследовали любезно предоставленные ООО Репер-НН (Нижний Новгород) 4 вида образцов разных модификаций бис-ГМА по 24 единицы каждого вида (табл. 1). Полимер бисфенол-А-глицидилметакрилата (бис-ГМА) широко применяется в стоматологии и зарекомендовал себя как нетоксичный и высокостабильный материал. Интерес офтальмологов к нему связан с тем, что бис-ГМА, обладая высокими оптическими свойствами, имеет ряд технологических преимуществ перед другими имплантационными полимерами, уже использующимися в офтальмологии.

В качестве контроля использовали образцы полиметилметакрилата (ПММА) идентичных размеров (10,0 x 0,5 мм), предоставленные ООО НЭП МНТК «МГ» (Москва) в количестве 24 единиц. ПММА — прозрачный материал с высокой прочностью, стабильностью и слабо выраженной токсичностью, традиционно использующийся в офтальмологии, хорошо изучен как в клинике, так и в экспериментах на животных [8]. Образцы исследуемых материалов имели форму прозрачных шайб диаметром 10 мм и высотой 0,5 мм. Выбор формы и размеров образцов был опосредован размером лунок стандартного 24-луночного планшета для культивирования клеток.

*Исследование биосовместимости полимерных материалов*

Для оценки биосовместимости полимерных материалов каждый исследуемый образец помещали в лунку 24-луночного культурального планшета

(Corning, США), вносили по 20x10<sup>3</sup> КЦ, объем среды в лунках доводили до 1 мл. Инкубировали в течение 6 сут. в стандартных условиях, смену среды проводили однократно на 3-и сут. культивирования. Планшеты с бис-ГМА составили 4 опытные группы («Бис-ГМА 1-4»). Планшет с образцами ПММА служил первой группой контроля («ПММА К1»). В качестве второго контроля использовали планшет с клетками, но без полимеров («К2») — клетки контактировали только с материалом культурального планшета — полистиролом (табл. 2).

Для оценки биотоксичности и биосовместимости полимерных материалов контролировали адгезию клеток и их пролиферацию. Клетки подсчитывали через каждые 24 ч в течение 6 сут. Количество клеток 4 лунок каждого планшета представляли как среднее (M) со средним квадратичным отклонением (σ). Материалы относили к тому или иному типу биологически совместимых в соответствии с принятыми определениями — по динамике клеточного роста, уровню инкапсуляции и физическим изменениям образцов материалов [3].

Статистический анализ проводили при помощи программного обеспечения Excel (Microsoft) и Statistica 7.0 (Statsoft). Уровень значимости статистических различий p принимали равным 0,05. В силу малых объемов отдельных выборок (n = 4) использовали критерий Уилкоксона.

*Исследование внешнего состояния образцов полимерных материалов после культивирования*

Полученные образцы материалов после культивирования ферментативно очищали от клеток и для визуальной оценки прозрачности материала исследова-

Таблица 1

Характеристика образцов бис-ГМА\*

Группа	Состав
Бис-ГМА 1	2000Т-65%; бисГМА-14% МЭГ 14% МАК 7%
Бис-ГМА 2	6000Т 60% бензМА 25% ОМА 15%
Бис-ГМА 3	бисГМА 22,5% бензМА 22,5% 2000Т 45% ТГМ-3 10%
Бис-ГМА 4	бисГМА 43% бензМА 17% ТГМ-9 25% ОМА 15%

**Примечание.** \* Сокращения, представленные в таблице: 2000Т — олигоуретанметакрилат марки 2000Т; 6000Т — олигоуретанметакрилат марки 6000Т; бис-ГМА — бисфенол-А-диглицидилметакрилат; МЭГ — монометакриловый эфир этиленгликоля; МАК — метакриловая кислота; бенза-МА — бензилметакрилат; ОМА — олигоуретанметакрилат.

Таблица 2

Распределение полимерных материалов по группам сравнения

Параметры	Бис-ГМА 1	Бис-ГМА 2	Бис-ГМА 3	Бис-ГМА 4	ПММА К1	К2
Количество лунок	24	24	24	24	24	24
Количество образцов	24	24	24	24	24	—
Количество КЦ на лунку	20 x10 <sup>3</sup>	20 x10 <sup>3</sup>	20 x10 <sup>3</sup>	20 x10 <sup>3</sup>	20 x10 <sup>3</sup>	20 x10 <sup>3</sup>



ли на фотометре Haze-Gard I (ВУК-Gardner, Германия), позволяющем изучать коэффициент общего пропускания (КОП). КОП представляет собой отношение проходящего света к падающему свету, зависит от свойств поглощения и отражения, и выражается в процентах. Исследование проводилось на базе ЭТП «Микрохирургия глаза».

## Результаты и обсуждение

### Качественная оценка роста и фенотипа клеток

Во всех исследуемых группах как на поверхности материалов, так и на поверхности культуральной посуды в течение эксперимента наблюдали пролиферативную активность КЦ, которые были представлены биполярными мезенхимоподобными клетками (рис. 1). Морфологически клетки опытных и контрольных групп не различались.

Иммуноцитохимическое окрашивание показало, что КЦ активно экспрессируют люмикан, кератокан и виментин, слабо экспрессируют кератан-сульфат, и не экспрессируют специфический маркер миофибробластов — гладкомышечный актин (рис. 2).

### Количественные характеристики роста клеток

Количество делящихся КЦ на экспериментальных образцах и в контрольных группах в разные сроки культивирования представлены в табл. 3 и на рис. 2—3.

Сроки культивирования статистически значимо (критерий Уилкоксона) влияли на количество клеток в экспериментальных группах. При анализе кривой

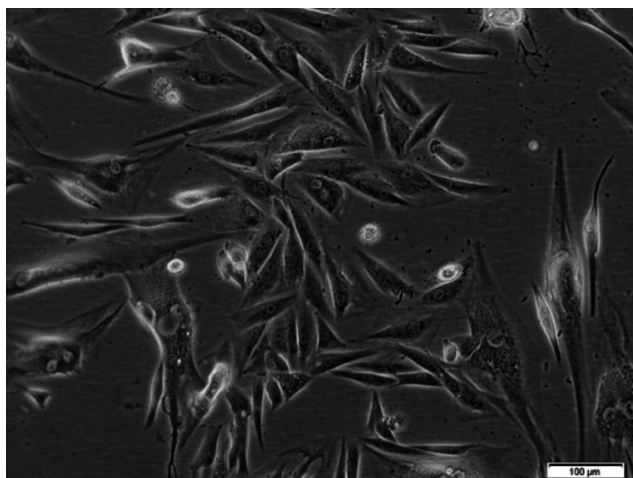


Рис. 1. Культура клеток кератоцитов пассажа 4, монослойная культура. Фазово-контрастная световая микроскопия ув. 100X

изменения количества кератоцитов (рис. 3) было выявлено, что в течение 1—2 сут. наблюдалась фаза адаптации (lag-фаза кривой роста). Максимальная скорость пролиферации КЦ приходилась на 2-е-4-е сут. культивирования (log-фаза), на 5-е—6-е сут. график выходил на фазу плато, при этом разница между количеством клеток на 5-е и 6-е сут. во всех группах сравнения становилась статистически незначимой (критерий Уилкоксона).

При сравнении количеств КЦ на конечном сроке культивирования наблюдали наименьшую активность

Таблица 3

Динамика изменения количества кератоцитов по группам сравнения, тыс. кл. на лунку

Сроки, сут.	Бис-ГМА 1	Бис-ГМА 2	Бис-ГМА 3	Бис-ГМА 4	ПММА К1	К2
1	18,62 ± 8,6	21,88 ± 4,2	12 ± 2,5	16,87 ± 3,5	13,7 ± 1,6	19,75 ± 1,0
2	45,3 ± 15,2	40,1 ± 6,5	30 ± 5,5	32,35 ± 7,3	31,9 ± 3,5	32,98 ± 3,1
3	72,31 ± 19,0	85,56 ± 13,6	42,88 ± 2,9	80,06 ± 13,4	117,9 ± 12,0	91,37 ± 11,3
4	151,75 ± 25,6	137,88 ± 10,3	76,19 ± 4,9	132,25 ± 23,3	184,9 ± 10,4	137,31 ± 13
5	262,75 ± 44,2	249,6 ± 46,8	122,13 ± 22,9	210,9 ± 29,0	256,4 ± 11,1	202,31 ± 20,3
6	279,25 ± 72,1	272,94 ± 80,0	181,69 ± 19,6	237,06 ± 28,8	290,06 ± 11,7	223,3 ± 30,1

Таблица 4

Коэффициент общего пропускания полимерных материалов

Полимерный материал	КОП до культивирования	КОП после культивирования
Бис-ГМА 1	85%	85%
Бис-ГМА 2	87%	87%
Бис-ГМА 3	92%	92%
Бис-ГМА 4	90%	90%
ПММА	92%	92%

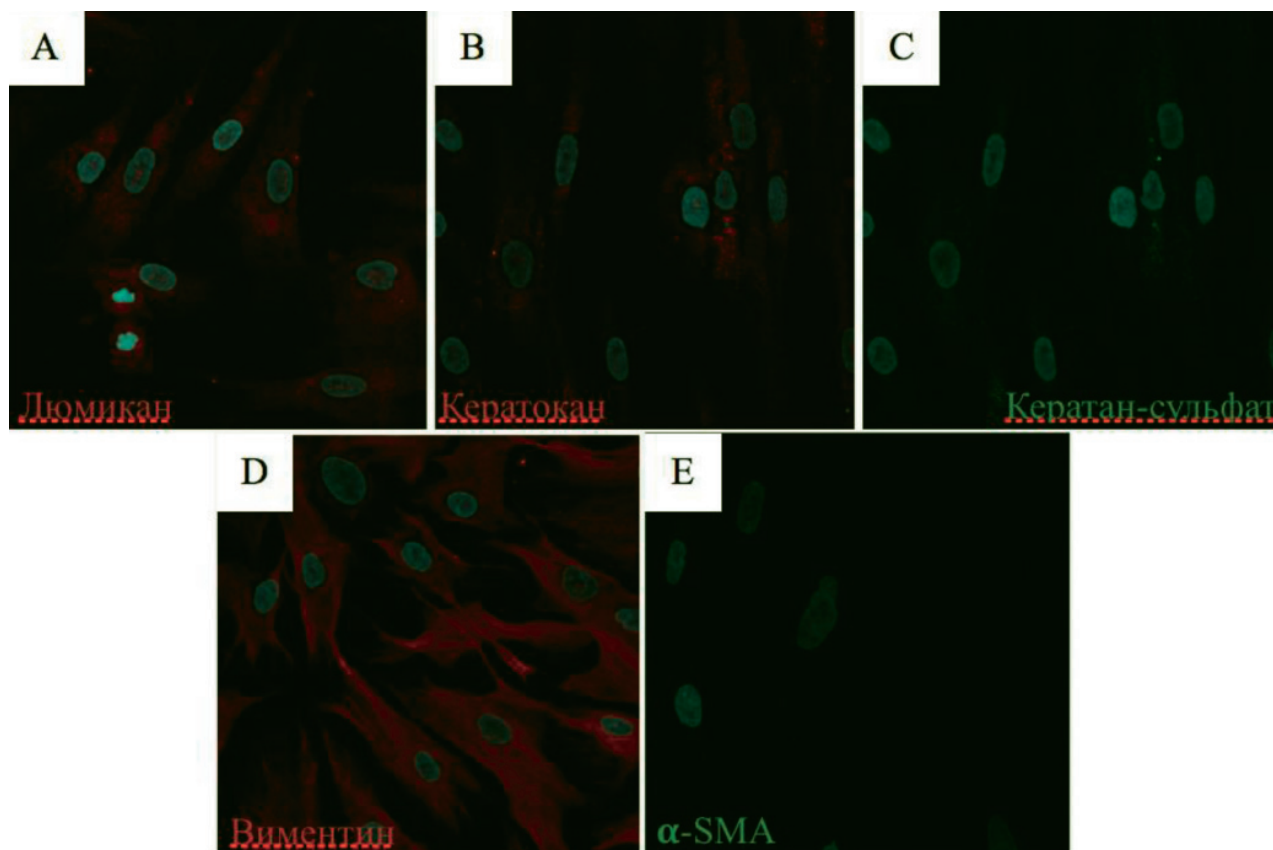


Рис. 2. Культура клеток кератоцитов пассаж 4, иммунофлуоресцентная окраска с антителами: А – Люмикан; В – Кератокан; С – Кератан-сульфат; Д – Виментин; Е –  $\alpha$ -SMA. Окраска ядер Hoechst. Ув. 600X.

деления клеток в группе Бис-ГМА № 3, а наибольшую — в группах Бис-ГМА № 1, № 2 и в группе сравнения ПММА К1. Результаты статистически значимы. В группе Бис-ГМА № 4 не было отмечено однозначной тенденции к усилению или ослаблению пролиферации по сравнению с группой контроля К2.

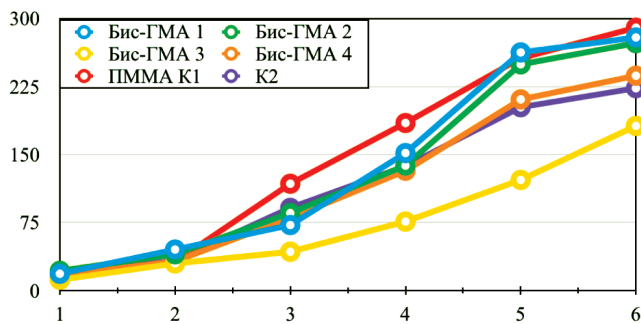


Рис. 3. Кривая изменения количества кератоцитов в экспериментальных группах в контрольные сроки.

### Внешнее состояние образцов полимерных материалов после культивирования

При световой микроскопии (ув. X10) и исследовании на фотометре Haze-Gard I было выявлено, что внешние характеристики и прозрачность всех образцов не отличались от исходного состояния до культивирования (табл. 4).

КЦ в культуре 4-го пассажа обладали характерными внешними признаками мезенхимных клеток и экспрессировали клеточные маркеры, типичные для КЦ. На протяжении всего эксперимента наблюдался устойчивый рост деления КЦ во всех группах. Ни один из исследованных образцов полимерных материалов не подавлял пролиферацию клеток и не проявлял признаков токсичности, в противном случае графики клеточного роста носили бы нисходящий характер.

По окончании наблюдения не было отмечено ни геометрических, ни оптических изменений структуры образцов, следовательно, ни один из исследованных материалов не являлся быстро биodeградируемым.

Таким образом, в силу слабо выраженной адгезии и пролиферации КЦ полимер бис-ГМА № 3 может быть рекомендован для изготовления роговичных оптических имплантатов-линз, требующих максимально длительного сохранения прозрачности. Полимеры бис-ГМА № 1 и № 2 могут быть рекомендованы для изготовления роговичных имплантов, требующих максимально выраженной иммобилизации в стромальной ткани роговицы (внутрироговичные укрепляющие сегменты, опорные элементы кератопротеза, биоискусственная роговица).

### References

1. Treushnikov VM, Viktorova EA Fundamentals of the creation of biocompatible and biostable polymer implants (review). *Sovremennye technologii v meditsyni*. 2015; 7(3): 149-71. (in Russian)
2. Williams DF, Dictionary of Biomaterials Liverpool: Liverpool University Press; 1999

3. Hench L., Jones D. *Biomaterials, artificial organs and tissue engineering*. [Biomaterialy, iskystvennyye organy I inzhiniring tkaney]. Moscow: Technosfera; 2007. (in Russian)

4. Malyugin B.E., Borzenok S.A., Mushkova I.A., Ostrovskiy D.S., Popov I.A., Shkandina Yu.V. Investigation on the intracorneal lens material biocompatibility using the model of the corneal stromal cell culture. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2017; 19 (1): 74-81. (in Russian)

5. Danihelova M, Veverka M, Sturdik E, Jantova S. Antioxidant action and cytotoxicity on HeLa and NIH-3T3 cells of new quercetin derivatives. *Interdisciplinary Toxicology*. 2013; 6(4): 209-16.

6. West-Mays J.A., Dwivedi D.J. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2006; 38(10): 1625-31.

7. Freshni R.Ya. *Culture of animal cells. Practical guidance: Trans. with English*. [Kultura zhivotnykh kletok. Prakticheskoe rukovodstvo: per. s angl.]. Moscow; Binom, 2010. (in Russian)

8. Cardona H. Nut and bolt mushroom transcorneal keratoprosthesis. *American Journal of Ophthalmology*. 1969; 68 (4): 604-12.

### Сведения об авторах:

*Островский Дмитрий Сергеевич*, аспирант, лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП; лаборант, лаб. трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГБАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

*Борзенко Сергей Анатольевич*, доктор мед. наук, проф., акад. РАЕН, зав. Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России; проф. каф. глазных болезней ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

*Сабурова Ирина Николаевна*, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП; профессор каф. общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России

*Малюгин Борис Эдуардович*, доктор мед. наук, проф., акад. РАЕН, заместитель генерального директора ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

*Мушкова Ирина Альфредовна*, доктор мед. наук, зав. отделом рефракционной лазерной хирургии ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

*Репин Вадим Сергеевич*, доктор мед. наук, проф., член-корр. РАН, гл. науч. сотр. лаб. Клеточной биологии и патологии развития; ФГБНУ НИИОПП, проф. каф. общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России; гл. науч. сотр. лаб. трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России