

Сабурина И.Н.<sup>1,2</sup>, Колокольцова Т.Д.<sup>1,2</sup>, Копаев С.Ю.<sup>3</sup>, Зурина И.М.<sup>1</sup>, Борзенко С.А.<sup>3</sup>

## Опыт культивирования клеток переднего эпителия роговицы глазного яблока человека

<sup>1</sup> — ФГБНУ «НИИ общей патологии и патологической физиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> — ГБОУ ДПО Российская медицинская Академия последипломного образования, 123995, Москва, ул. Баррикадная, 2/1

<sup>3</sup> — Центр фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава, 127486, Москва, ул. Бескудниковский бульвар, 59а

Эпителий роговицы взрослого организма чаще всего подвергается внешнему воздействию, повреждается и восстанавливается за счет стволовых клеток лимба. Повреждение эпителиального слоя роговицы приводит к нарушению прозрачности и потере зрения. Недавно показано, что стволовые клетки встречаются в том числе и в эпителиальном слое. Создание культуры клеток эпителиального слоя роговицы позволит понять механизмы поведения, дифференцировки клеток, особенности их метаболизма и реакцию клеток на внешние воздействия в норме и патологии. Культивированные эпителиальные клетки роговицы рассматриваются, кроме того, как высокоперспективные для конструирования биоискусственной роговицы. Цель работы — выделение клеток переднего эпителия донорской роговицы глаза человека и изучение их морфофункциональных характеристик при культивировании *in vitro*. Результаты исследования показали возможность культивирования эпителиальных клеток *in vitro*. Наблюдаемое изменение морфологии клеток, характерный поточный их рост, а также активная пролиферация клеток и увеличивающаяся экспрессия маркеров мезенхимного ряда свидетельствует, по нашему мнению, об эпителио-мезенхимном переходе клеток переднего эпителия роговицы глаза человека при длительном их культивировании. Полученные культуры клеток могут быть использованы для дальнейшего исследования патологических процессов в клетках при тестировании лекарственных препаратов или контроле фототоксичности разных излучений.

**Ключевые слова:** роговица, эпителий роговицы, культура клеток переднего эпителия, стволовые клетки, мезенхимные стволовые клетки, маркеры клеток, цейттраферная микроскопия

Saburina I.N.<sup>1,2</sup>, Kolokoltsova T.D.<sup>1,2</sup>, Kopayev S.Yu.<sup>3</sup>, Zurina I.M.<sup>1</sup>, Borzenok S.A.<sup>3</sup>

## Experience of culturing anterior epithelial corneal cells from human eye ball

<sup>1</sup> — FSBSI «Institute of general pathology and pathophysiology», 8, Baltiyskaya st., 125315, Moscow, Russia

<sup>2</sup> — Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 2/1, Barrikadnaya st., 123995, Moscow, Russia

<sup>3</sup> — Fyodorov Eye Microsurgery Complex FSBI, 59a, Beskudnikovsky boulevard, 127486, Moscow, Russia

Adult corneal epithelium is often exposed to environmental stress, injured and repaired by limbal stem cells. Injury of corneal epithelial layer leads to reduction of visual clarity and loss of vision. Recently it was shown that epithelial layer also contains stem cells. Obtaining cell culture of corneal epithelium will allow understanding mechanisms of cell behavior and differentiation, their metabolism and reaction on environmental stress in health and disease. Moreover, cultured corneal epithelial cells can be considered as a promising material for constructing bioartificial cornea. The aim of this study was to isolate cells of anterior corneal epithelium from human donor cornea and to study their morphological and functional characteristics *in vitro*. The results of our study showed the possibility of culturing epithelial cells *in vitro*. The observed changes in cell morphology, their flow growth character as well as active proliferation and up-regulation of mesenchymal markers expression, indicate, in our opinion, epithelial-mesenchymal transition taking place in long-lasting culture of human anterior corneal epithelial cells. The obtained cultures can be used for further studies of pathological processes taking place in cells during drugs testing or controlling the phototoxic effect of different types of emission.

**Key words:** cornea; corneal epithelium, cell culture of anterior epithelium, stem cells, mesenchymal stem cells; cell markers; time-lapse microscopy

**Для корреспонденции:** Сабурина Ирина Николаевна — д-р биол.наук, зав. лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИ Общей патологии и патофизиологии»; профессор кафедры общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО Российская медицинская Академия последипломного образования Минздрава России. E-mail: saburina@mail.ru

Эпителий роговицы взрослого организма чаще всего подвергается внешнему воздействию, повреждается и восстанавливается за счет стволовых клеток лимба. Повреждение эпителиального слоя роговицы приводит к нарушению прозрачности и потере зрения. Исследо-

ваниями последних лет показано, что стволовые клетки обнаруживаются в том числе и в эпителиальном слое роговицы [1]. Создание культуры клеток переднего слоя роговицы позволяет понять механизмы поведения, дифференцировки клеток, особенности их метаболизма и оценить характер реакции клеток на внешние воздействия. Культивированные эпителиальные клетки роговицы рассматриваются, кроме того, как высокоперспективные в качестве модели для исследования и источника клеток для конструирования биоискусственной роговицы. *Цель работы* — выделение клеток переднего эпителия донорской роговицы глаза человека и изучение их морфофункциональных характеристик при культивировании *in vitro*.

### Методика

#### *Выделение первичных культур клеток переднего эпителия роговицы*

Клетки переднего эпителия роговицы глазного яблока человека выделяли из аутопсийного материала, предоставленного Глазным тканевым банком Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России. Для выделения клеток использовали 12 аутопсированных глаз (от 12 доноров 65—68 лет).

Глазные яблоки освобождали от окружающих тканей, промывали в 70% этиловом спирте в течение не более 2—3 минут, затем в холодном растворе Хэнкса с антибиотиками в стандартной концентрации — пенициллин 100 Ед/мл, стрептомицин 100 мкг/мл и транспортировали в лабораторию. Работу по выделению и культивированию клеток проводили в ламинарном боксе с соблюдением правил асептики.

Из промытых глазных яблок с помощью трепана и ножниц выделяли роговицу, подвергали ее ферментативной обработке в растворах коллагеназы А (Sigma, 2 мг/мл) и 0,25%-ном растворе трипсина, при температуре 37°C в течение 40 мин. Под стереомикроскопом в ламинарном боксе отделяли клетки рогового эпителия и помещали в пластиковые чашки Петри в концентрации  $100 \times 10^3$  кл/мл в питательной среде DMEM/F12 (1:1, ПанЭко, Россия) с добавлением глутамина (2мМ/L, ПанЭко, Россия), гентамицина (50 мкг/мл, ПанЭко, Россия), ИТС (1:100, ПанЭко, Россия) и 10% сыворотки крови плодов коровы (HyClone, США).

#### *Культивирование клеток*

Все выделенные штаммы клеток культивировали в CO<sub>2</sub>инкубаторе в стандартных условиях (37°C; 5%CO<sub>2</sub>) в чашках Петри или в планшетах. Смену среды осуществляли через 24 ч в первичной культуре кле-

ток, затем через 48 ч, поддерживали клетки до формирования плотных островков роста либо формирования монослоя клеток. На втором и последующих пассажах клетки пересевали через 3—5 сут. Для снятия клеток использовали растворы версена и 0,25%-ного трипсина. Клетки пересевали на новую чашку Петри в концентрации  $3 \times 10^5$  кл/мл ростовой среды.

Контроль морфологии и характер роста клеток изучали на приборе Cell-IQ, производства ChipMan Technologies (Финляндия). Для контроля клетки выращивали в 12- или 24-луночных пластиковых планшетах. Клетки засевали в плотности  $10 \times 10^3$  кл/лунку и помещали в термостатируемую камеру прибора Cell-IQ при стандартных условиях (37°C; 5%CO<sub>2</sub>) в течение 3 сут.

#### *Исследование иммунофенотипа культур клеток*

Исследование иммунофенотипа культур клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии на приборе FC500 (BeckmanCoulter, США). Анализировали экспрессию поверхностных белков: CD14, CD45, CD34, CD90 и CD105 в первичных культурах клеток, а также на 2-м—4-м пассажных уровнях.

Для проведения анализа клетки, выращенные в течение 72 ч, снимали с чашек Петри с использованием растворов версена и 0,25%-ного трипсина, центрифугировали (7 мин, g = 100), к полученному осадку добавляли 700 мкл раствора фосфатно-солевого буфера (pH = 7,4) с добавлением 1% эмбриональной сыворотки крови плодов коровы и разливали по 100 мкл. К каждой пробе согласно рекомендованным производителями протоколам добавляли антитела, конъюгированные с флуоресцентными метками FITC fluorescein isothiocyanate, PE — phycoerythrin, PC5 Phycoerythrin-Cyanin 5.1, PTRX — Phycoerythrin-TexasRed-X (BeckmanCoulter, США) и инкубировали 15 мин при комнатной температуре в темноте. После этого пробы центрифугировали (5 мин, 400g), осадок ресуспендировали в 1 мл раствора фосфатно-солевого буфера (pH = 7,4) с добавлением 1% эмбриональной сыворотки крови плодов коровы и переносили в пробирки для проточного цитофлуориметра. Результаты оценивали на проточном цитофлуориметре FC500 с помощью программы CXP Software.

### Результаты и обсуждение

Первично выделенные клетки переднего эпителия роговицы активно прикреплялись к дну культурального пластика в чашке Петри через 5—7 ч, смену питательной среды производили не ранее чем через 24 ч после посева. Через 1 сут. после смены среды наблюдались островки округлых эпителиальных клеток. Встречались также медленно делящиеся

стромальные, фибробластоподобные одноядерные клетки, многоядерные клетки наблюдались редко (не более 0,1%) (рис. 1,А). Первично выделенные клетки формировали монослой только к 5-м—7-м сут. культивирования. Контроль контаминации клеток методами окрашивания флюорохромами Dapi и Hoechst 33258 показал отсутствие микоплазменной и бактериальной контаминации в культуре клеток. Отсутствие вирусов подтверждено методами ИФА- и ПЦР-анализа.

Культура клеток переднего эпителия роговицы после 1-го и 2-го пассирования *in vitro* формировала довольно ровный монослой, представленный гомогенной популяцией округлых или полигональных клеток эпителиального фенотипа, плотно прилегающих друг к другу (рис. 1,Б). В популяции практически исчезли стромальные фибробластоподобные клетки.

Характер роста клеток, их морфология и размеры значительно изменялись при последующем культивировании. На уровне 4-го—5-го пассажей монослой клеток был представлен более крупными биполярными клетками с 1 ядром. Клетки активно делились и формировали плотный монослой уже к концу 3-х сут. культивирования (рис. 1,В). Наблюдался характерный поточный рост клеток.

Культуры клеток на первых пассажах, как правило, были представлены мелкими клетками (рис. 2). До 97% клеток имели размеры от 7 до 10 мкм, число клеток с размером до 12—15 мкм составляло не более 2%. При последующих пересевах клетки существенно не увеличивались в размерах, до 98% клеток имели размеры от 7 до 14 мкм.

Подсчет количества живых клеток в поле зрения в монослой с помощью цифровой фоторегистрации на приборе Cell-IQ Imagen. Как видно из рис. 3, на 2-м пассаже клетки росли довольно медленно и число их в поле зрения удваивалось только к концу культивирования (72 ч). На 4-м пассаже число клеток удваивалось уже через 40—45 ч и индекс пролиферации достигал к концу 3-х сут. культивирования значения 3 и более, что свидетельствует о более высокой пролиферативной активности клеток.

Анализ экспрессии маркеров культуры клеток переднего эпителия роговицы методом проточной цитофлуориметрии на разных пассажах был применен для того, чтобы охарактеризовать исходную популяцию выделенных клеток и проанализировать изменения их фенотипа, дифференцировки, а также сравнить функциональную активность исследуемых клеток эпителия роговицы на разных сроках культивирования *in vitro*.

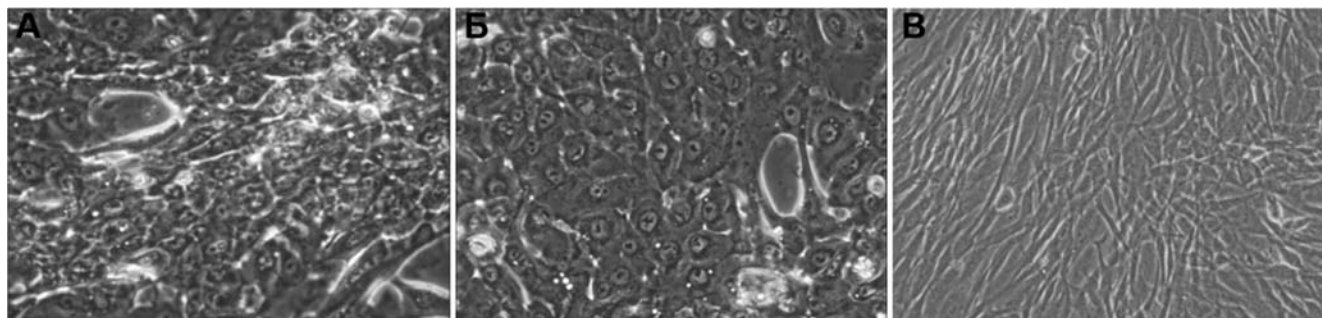


Рис. 1. Изменение морфологии клеток переднего эпителия роговицы глаза человека на разных пассажных уровнях при культивировании *in vitro*. 1-й пассаж (А), 2-й пассаж (Б), 5-й пассаж (В). Световая микроскопия, ув. x20.

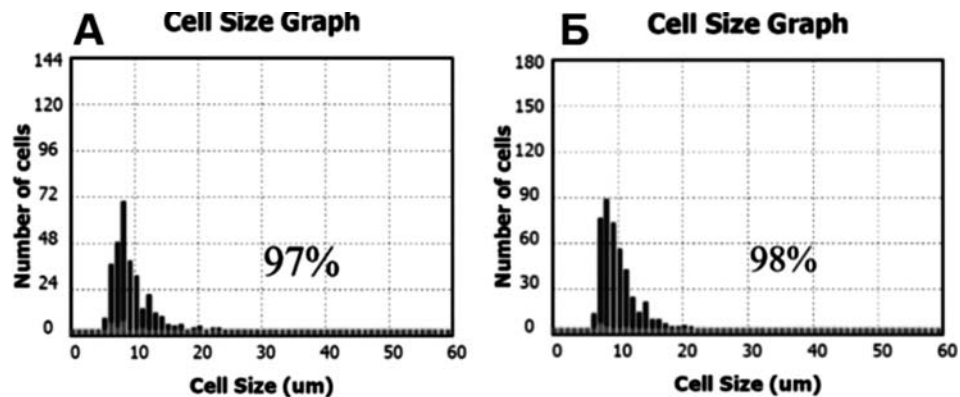


Рис. 2. Размеры клеток переднего эпителия глаза, снятых с культурального флакона, после культивирования *in vitro* в течение 1 (А) или 4 пассажей (Б).

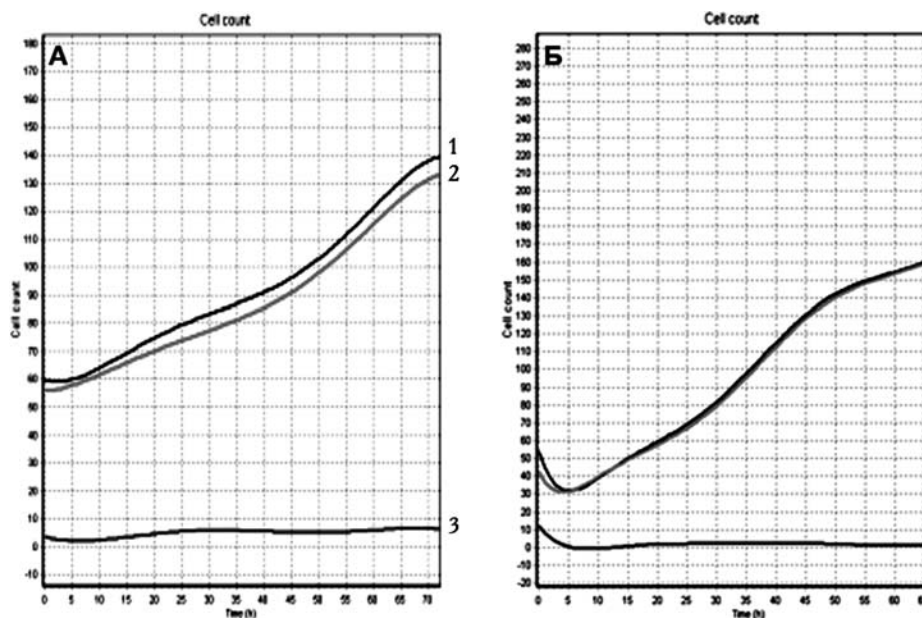


Рис. 3. Изменение количества клеток переднего эпителия роговицы глаза человека при культивировании в течение 3 сут. в монослое на 2 (А) и 5 пассаже (Б). Кривая 1 — общее число клеток; кривая 2 — число живых клеток; кривая 3 — число делящихся клеток

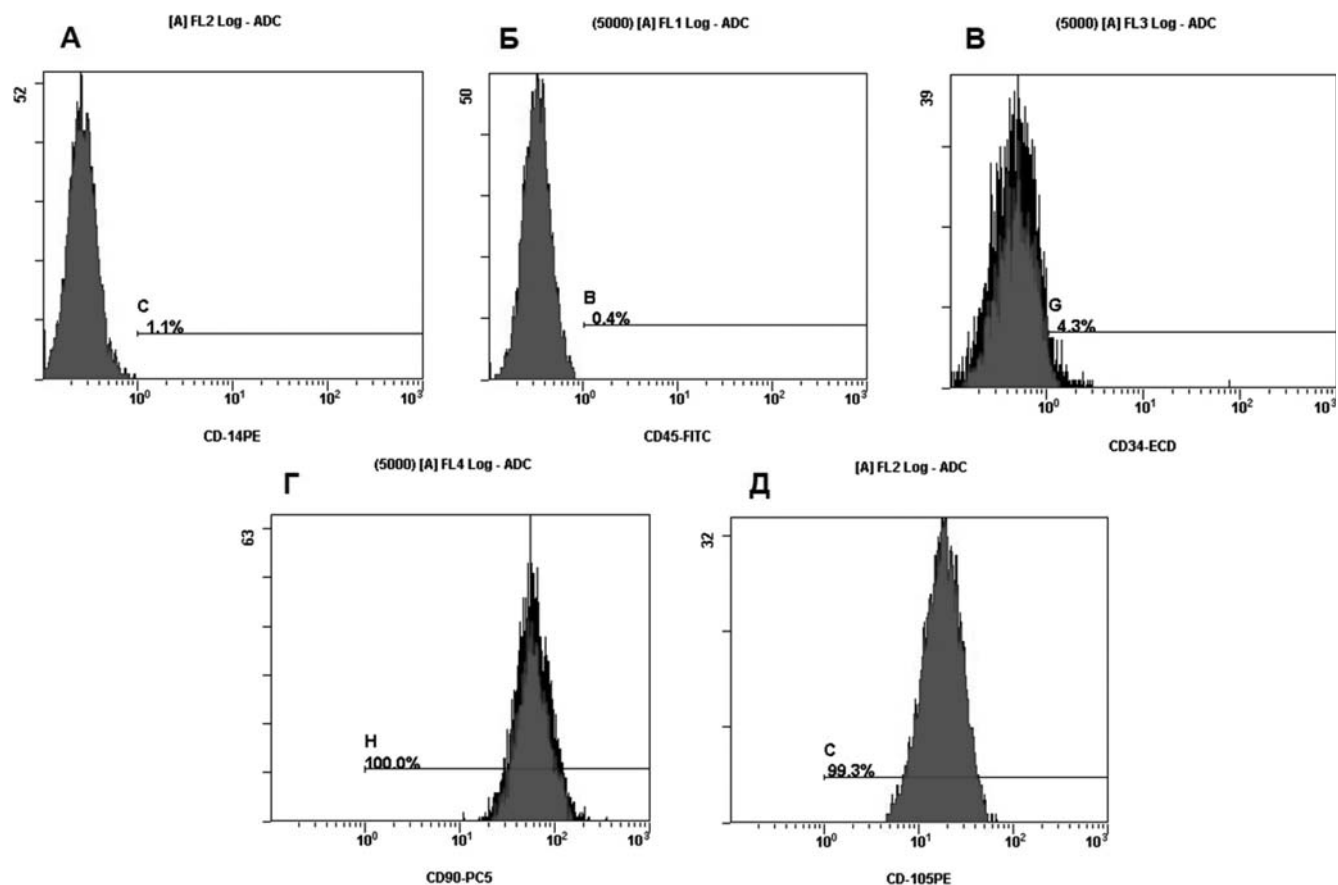


Рис. 4. Данные проточной цитофлуориметрии по экспрессии поверхностных маркеров клетками переднего эпителия роговицы глаза человека на 5-м пассаже. А — CD14; Б — CD45; В — CD34; Г — CD90; Д — CD105.

Результаты иммунофенотипирования клеток переднего эпителия роговицы на разных пассажных уровнях представлены в таблице.

Отмечено, что при культивировании эпителия роговицы количество клеток, экспрессирующих такие маркеры, как CD14, CD45, CD34, CD90 и CD105 изменялось с ростом числа пассажей. Как видно из таблицы, в культуре клеток эпителия роговицы на 2-м пассаже (P2) по сравнению с первичной культурой доля клеток, позитивно экспрессирующих CD90<sup>+</sup>, увеличивалась от 77,3% до 79,7%, число CD105<sup>+</sup> клеток от 48,9% до 53,5% от общего количества клеток в культуре. Доля CD34 позитивных клеток варьировала в пределах 4,4—3,7%, а число клеток, экспрессирующих CD45 или CD14, уменьшалось от 8,6% до 6,9% и от 10,7% до 8,6% соответственно. Эти небольшие изменения связаны, в первую очередь, с уменьшением количества клеток гемопоэтического ряда за счет пассирования культуры. Тем самым достигалась большая однородность и гомогенность клеточной культуры по сравнению с исходной популяцией первично-выделенных клеток.

Данные иммунофенотипирования клеток эпителия на последующих пассажах (3-й и 5-й пассажи) подтверждали также снижение числа клеток, имеющих маркеры кроветворного ряда CD14<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup> и CD34<sup>+</sup>, однако наблюдалось значительное увеличение количества клеток, экспрессирующих маркеры мезенхимного ряда CD90 и CD105 до 100% и 99,3%, соответственно (таблица и рис. 4). Результаты проточной цитофлуориметрии клеток эпителия роговицы, культивированных в течение 5 пассажей *in vitro*, представлены на рис. 4.

Передний эпителий роговицы является слоем, главные функции которого заключаются в обеспечении прозрачности, защиты от внешнего воздействия, но в то же время и регенерации ткани после повреждения за счет активно делящихся или стволовых клеток. Основным источником стволовых клеток эпителия роговицы являются клетки лимба, однако и в эпителии роговицы также могут быть недифференцированные эпителиальные клетки. Ранее была показана пластичность взрослых эпителиальных клеток роговицы по способности изменять фенотип в ответ на сигналы эмбриональной дермы [2]. Это позволило авторам пред-

положить, что эпителиальные клетки могут репрограммироваться. В другой работе отмечено, что клетки эпителия роговицы могут трансдифференцироваться в другие типы клеток, в том числе в клетки волосных фолликулов [3]. Пластичность эпителия роговицы отмечается и в других работах [4].

Опыт многих исследователей показал, что для культивирования клеток эпителия используют различные субстраты или компоненты внеклеточного матрикса, как, например, фидерный слой клеток или амниотическая мембрана, а также предварительное покрытие коллагеном I или IV типа или желатином [2, 5, 6, 7]. Sun и Lavkert (2004) выращивали эпителиальные клетки роговицы кролика в присутствии фидерного слоя мышечных клеток 3T3. Культивированные таким образом клетки имели эпителиальную природу, что подтверждалось по экспрессии кератина K3, и сохраняли пролиферативную активность. Кроме того, авторы снижали количество сыворотки в питательной среде, либо добавляли сыворотку крови донора [1]. В наших исследованиях клетки культивировались на пластике и в питательной среде с добавлением только сыворотки плодов коровы (10%). Возможно, наблюдаемые уже на 2-м—4-м пассажах изменения характеристик клеток обусловлены именно этими факторами.

Известно, что контаминация клеток микоплазмой существенно влияет на результаты исследований, изменяя при этом морфологию и функции клеток [8]. Поэтому отсутствие контаминантов позволило нам исключить получение ложноположительных результатов.

Исследование иммунофенотипа культур клеток является показателем гомогенности или гетерогенности выделенных клеточных культур и проводится с помощью специфических моноклональных антител, характерных для стволовых, прогениторных и дифференцированных клеток тканей глаза. Наблюдаемое изменение иммунофенотипического профиля культивируемых клеток, скорее всего, обусловлено влиянием условий культивирования, потенциально высокой пластичностью эпителиальных клеток, сопровождающейся эпителио-мезенхимным переходом данной культуры при монослойном культивировании. Это доказывает увеличение экспрессии маркеров, характерных для мультипотентных мезенхимных стромальных клеток, таких,

Таблица

Иммунофенотипирование культуры клеток переднего эпителия роговицы на разных пассажных уровнях

	CD14	CD45	CD34	CD90	CD105
1 пассаж	10,7 ± 2,71	8,6 ± 1,19	4,4 ± 2,04	77,3 ± 2,45	48,9 ± 1,53
2 пассаж	8,6 ± 0,74	6,9 ± 0,86	3,7 ± 0,89	79,7 ± 0,91	53,5 ± 0,78
3 пассаж	5,5 ± 0,47	4,9 ± 0,86	3,7 ± 0,37	90,7 ± 0,76	75,5 ± 0,48
5 пассаж	1,1 ± 0,34	0,4 ± 0,38	4,3 ± 0,32	100 ± 0,54	99,3 ± 0,17

как CD90 и CD105. Эпителио-мезенхимный фенотип клеток подтверждается, кроме того, экспрессией виментина практически всеми клетками на 5 пассаже. Ранее нами было показано, что изменение эпителиоидного фенотипа клеток на полигональный, а затем на биполярный объясняется эпителио-мезенхимальной пластичностью клеточной культуры, которая проявляется при длительном монослойном культивировании практически всех эпителиальных культур клеток [9]. Аналогичные результаты представлены по эпителио-мезенхимному переходу эпителиальных клеток лимба [7].

В работе болгарских исследователей рассматриваются несколько типов клеток, выделяемых из роговицы глаза человека [1]. Мультипотентные, фибробластоподобные клетки, имеющие следующий профиль маркеров: CD34-, CD45-, CD14-, CD105+. Профиль маркеров этих клеток отличался от такового мезенхимных клеток костного мозга или других взрослых клеток, однако близок к характеристикам мелких эмбрионально-подобных стволовых клеток взрослого организма. Другая группа фибробластоподобных клеток, формирующих сфероиды в культуре, были мультипотентны и экспрессировали маркеры мезенхимоподобных клеток: CD105+, CD106+, CD90+, CD45-, CD14- и т.д. Сходство характеристик выделенных нами и культивированных *in vitro* клеток эпителия свидетельствует о присутствии таких же типов клеток в культуре и подтверждает их эпителио-мезенхимную пластичность.

Присутствие стволовых или мезенхимоподобных клеток в роговице дает нам новые знания не только о составе клеток, и их возможной пластичности, но и о их взаимоотношениях. Понимание этих взаимоотношений, как и поведения клеток при физиологических и патологических условиях, позволит нам лучше понять процессы заживления роговицы или ее репарации.

### Заключение

Результаты исследования показали возможность культивирования эпителиальных клеток *in vitro*. Наблюдаемое изменение морфологии клеток, характерный поточный их рост, а также активная пролиферация клеток и увеличивающаяся экспрессия маркеров мезенхимного ряда свидетельствует, по нашему мнению, об эпителио-мезенхимных переходах клеток переднего эпителия роговицы глаза человека при длительном их культивировании. Пластичность эпителиальных клеток в культуре делает эти клетки перспективным источником для регенеративной медицины. Полученные культуры клеток могут быть использованы для дальнейшего исследования патологических процессов в клетках при контроле лекарственных препаратов или фототоксичности разных излучений.

### Список литературы

1. Takacs L., Toth, E., Berta, A., Vereb, G. Stem cells of the adult cornea: from cytometric markers to therapeutic applications. *Cytometry Part A*. 2009; 75(1): 54-66.
2. Gospodarowicz D., Greenburg G., Alvarado J. Transplantation of cultured bovine corneal endothelial cells to rabbit cornea: clinical implications for human studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1979; 76(1):464-8.
3. Pearton D.J., Yang Y., Dhouailly D. Transdifferentiation of corneal epithelium into epidermis occurs by means of a multistep process triggered by dermal developmental signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102(10): 3714-9.
4. Boulton V., Albon J., Drant V. Stem cells in the Eye. In: «Principles of tissue engineering». Ed.by Lanza L., Langer R., Vacanti J. *Academic Press*. 2011; 1399-1440.
5. Kobayashi T., Yoshioka R., Shiraishi A., Ohashi Y. New technique for culturing corneal epithelial cells of normal mice. *Molecular vision*. 2009; 15: 1589.
6. Sun T.T., Lavker R.M. Corneal epithelial stem cells: past, present, and future. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. — *Nature Publishing Group*, 2004; 9. — №3: 202-207.
7. Li W., Hayashida Y., He H., Kuo C.L., Tseng S.C. The fate of limbal epithelial progenitor cells during explant culture on intact amniotic membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007; 48. №2: 605-613.
8. Колокольцова Т.Д., Сабурин И.Н. Патологические аспекты микоплазменной контаминации клеточных культур. *Патогенез*. 2013. №3: 29-31.
9. Сабурин И.Н., Репин В.С. 3D-культивирование: от отдельных леток к регенерационной ткани (к вопросу о феномене эпителио-мезенхимальной пластичности). *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010; 5. №2: 75-86.

### References

1. Takacs L., Toth, E., Berta, A., Vereb, G. Stem cells of the adult cornea: from cytometric markers to therapeutic applications. *Cytometry Part A*. 2009; 75. №1: 54-66.
2. Gospodarowicz D., Greenburg G., Alvarado J. Transplantation of cultured bovine corneal endothelial cells to rabbit cornea: clinical implications for human studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1979; 76. №1: 464-468.
3. Pearton D.J., Yang Y., Dhouailly D. Transdifferentiation of corneal epithelium into epidermis occurs by means of a multistep process triggered by dermal developmental signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102. №10: 3714-3719.
4. Boulton V., Albon J., Drant V. Stem cells in the Eye. In: «Principles of tissue engineering». Ed.by Lanza L., Langer R., Vacanti J. *Academic Press*. 2011: 1399-1440.
5. Kobayashi T., Yoshioka R., Shiraishi A., Ohashi Y. New technique for culturing corneal epithelial cells of normal mice. *Molecular vision*. 2009; 15: 1589.
6. Sun T. T., Lavker R. M. Corneal epithelial stem cells: past, present, and future. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. — *Nature Publishing Group*, 2004; 9. №3: 202-207.
7. Li W., Hayashida Y., He H., Kuo C.L., Tseng S.C. The fate of limbal epithelial progenitor cells during explant

culture on intact amniotic membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007; 48. №2: 605-613.

8. Kolokoltsova T.D., Saburina I.N. Pathological aspects of mycoplasma contamination in cell cultures. *Pathogenesis*. 2013. №3: 29-31. (In Russian).

9. Saburina I.N., Repin V.S. 3D culture: from single cells to regenerative tissue (revisiting phenomena of epitheli-

al-mesenchymal plasticity). *Cell transplantology and tissue engineering*. — 2010; 5. — №2: 75-86. (In Russian).

Поступила 11.11.14

Received 11.11.14

### Сведения об авторах:

*Колокольцова Тамара Дмитриевна* — д-р биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИ Общей патологии и патофизиологии»; профессор кафедры общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО Российская медицинская Академия последипломного образования Минздрава России

*Кобаев Сергей Юрьевич* — канд. мед. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России

*Зурина Ирина Михайловна* — мл. науч. сотр. лаборатории клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»

*Борзенко Сергей Анатольевич* — д-р мед. наук, профессор, академик РАЕН, руководитель центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова»