

## Интрастромальная имплантация трековых мембран с пренатальными стромальными клетками человека при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы в эксперименте

Филиппова Е.О.<sup>1,2</sup>, Кривошеина О.И.<sup>2</sup>, Хлусов И.А.<sup>1,2,3</sup>, Пичугин В.Ф.<sup>1</sup>,  
Дзюман А.Н.<sup>2</sup>, Зайцев К.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>3</sup> Сибирский федеральный научно-клинический центр (СибФНКЦ) ФМБА России  
Россия, 636035, Томская область, г. Северск, ул. Мира, 4

### РЕЗЮМЕ

**Цель работы.** Провести исследование применения трековых мембран (ТМ) на основе полиэтилен-терефталата (ПЭТФ), в том числе модифицированных холодной плазмой с наслоением на их поверхность культуры пренатальных стромальных клеток (ПСК) человека в хирургическом лечении эндотелиально-эпителиальной дистрофии (ЭЭД) роговицы.

**Материалы и методы.** ТМ получали путем облучения ПЭТФ ионами  $^{40}\text{Ar}^{+8}$  и химического травления. ЭЭД роговицы моделировали на 16 кроликах породы *Sylvilagus bachmani*, разделенных на четыре группы. Группа 1 – ЭЭД роговицы без лечения; группа 2 – ЭЭД с имплантацией в собственное вещество роговицы немодифицированной плазмой ТМ; группа 3 – ЭЭД с имплантацией в роговицу немодифицированной плазмой ТМ и наслоенной культурой ПСК человека; группа 4 – ЭЭД с имплантацией модифицированной плазмой ТМ и наслоенной культурой ПСК человека. Спустя 8 нед от начала эксперимента производили гистологическое исследование роговицы кроликов.

**Основные результаты.** Имплантация ТМ в строму роговицы при ЭЭД роговой оболочки способствует уменьшению (в 1,5 раза) отека ее собственного вещества и более интенсивному (в 1,7 раза) накоплению фибробластов вблизи ТМ по сравнению с состоянием роговицы в группе модели заболевания без лечения. Наличие ПСК человека на поверхности ТМ независимо от исходного состояния полимерного материала после интрастромальной имплантации индуцирует пролиферацию фибробластов в 1,5–1,8 раз и неоваскуляризацию стромы роговицы в 1,8–2,0 раза по сравнению с имплантацией ТМ без культуры клеток. Степень гидратации собственного вещества роговой оболочки при этом уменьшается в 1,3–1,5 раза. Модификация ТМ холодной плазмой не оказывает влияния на изученные морфометрические показатели роговицы.

**Заключение.** Имплантация ТМ из ПЭТФ при ЭЭД способствует развитию продуктивной фазы инфильтративного воспаления в роговице глаза кроликов. Предварительная *in vitro* адгезия ПСК человека на ТМ уменьшает выраженность деструктивных изменений роговицы кролика после моделирования ЭЭД. Модификация ТМ холодной плазмой не влияет на изученные морфометрические показатели роговицы.

**Ключевые слова:** роговица, эндотелиально-эпителиальная дистрофия, трековые мембраны, пренатальные стромальные клетки человека.

✉ Хлусов Игорь Альбертович, e-mail: khlusov63@mail.ru.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00048.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 3898 от 24.11.2014).

**Для цитирования:** Филиппова Е.О., Кривошеина О.И., Хлусов И.А., Пичугин В.Ф., Дзюман А.Н., Зайцев К.В. Интрастромальная имплантация трековых мембран с пренатальными стромальными клетками человека при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы в эксперименте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 157–164. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-157-164>.

УДК 616.831-018.8-073.97

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-157-164>

## Intrastromal implantation of track-etched membranes overlaid by prenatal stromal cells for bullous keratopathy in the experiment

Filippova E.O.<sup>1,2</sup>, Krivosheina O.I.<sup>2</sup>, Khlusov I.A.<sup>1,2,3</sup>, Pichugin V.F.<sup>1</sup>, Dzyuman A.N.<sup>2</sup>, Zaitsev K.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)  
30, Lenina Ave., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> Federal Siberian Research Clinical Center FMBA of Russia  
4, Mira Str., Seversk, 636035, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim of the research** is to study the possibility of using track-etched membrane, including track-etched membranes modified with cold plasma, followed by layering prenatal stem cells (PSC) on the material surface in surgical treatment of bullous keratopathy (BK).

**Materials and methods.** The track membranes made of polyethylene terephthalate were obtained by irradiating the polymeric film with the  $^{40}\text{Ar}^{+8}$  ion beams and by chemical etching. The study was conducted on 16 rabbits (*Sylvilagus bachmani*), which after BK modelling were divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> group was a control group of 4 animals (4 eyes); the 2<sup>nd</sup> group was a group of 4 animals (4 eyes) into which were implanted TM; the 3<sup>rd</sup> group was a group of 4 animals (4 eyes) into which were implanted TM with PSC; the 4<sup>th</sup> group was a group of 4 animals (4 eyes) into which were implanted plasma modified TM with PSC. TM was obtained by irradiating the PET film with  $^{40}\text{Ar}^{+8}$  ions and subsequent chemical etching. The eyes were enucleated for histological examination after 8 weeks from the start of the experiment.

**Results.** As a result of the research, it was found that the implantation of TM with a preliminary layering of human PSC promotes the growth of the fibroblast population in the cornea stroma and intensifies leukocyte (lymphocytes and eosinophilic granulocytes) infiltration as opposed to the implantation of PET TM without a cellular component. In addition, the implantation of TM contributes to a twofold decrease in the cornea edema induced by BK. Modification of TM with cold plasma did not affect the studied histomorphometric parameters. **Conclusion.** The implantation of TM based on PET during bullous keratopathy contributed to the development of the productive phase of infiltrative inflammation in the cornea of the eye. Pre-layering of human PSC reduced the severity of destructive changes in the rabbit cornea after BK modeling. The modification of TM by cold plasma did not affect the studied histomorphometric parameters.

**Key words:** cornea, bullous keratopathy, track etched-membranes, human stromal cells.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Sources of funding.** The research was conducted with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) as part of the project No. 18-315-00048.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the ethics committee at SSMU (Protocol No. 3898 of 24.11.2014).

**For citation:** Filippova E.O., Krivosheina O.I., Khlusov I.A., Pichugin V.F., Dzyuman A.N., Zaitsev K.V. Intrastromal implantation of track-etched membranes overlaid by prenatal stromal cells for bullous keratopathy in the experiment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (2): 157–164. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-157-164>.

## ВВЕДЕНИЕ

Эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) роговицы – хроническое прогрессирующее заболевание роговицы, в основе патогенеза которого лежит необратимое уменьшение численности клеток заднего эпителия и, как следствие, утрата ими барьерной и насосной функций, что ведет к развитию отека, снижению зрения и появлению у пациента болевого симптома. Лечение ЭЭД роговицы не всегда обеспечивает стабильные клинико-функциональные результаты [1–3], что обуславливает поиск и разработку материалов, способных поддерживать роговицу в слабо дегидратированном состоянии. Особый интерес представляют трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата (ПЭТФ). Величина поверхностной энергии трековых мембран из ПЭТФ достаточно мала (32 мДж/м<sup>2</sup>) [4], поэтому степень гидрофильности данного материала является критичной для использования мембран в качестве имплантата и подложки для адгезии клеток. Для повышения смачиваемости мембран и улучшения адгезии на них культуры клеток [5] возможна модификация поверхности полимерных материалов, в частности, с помощью низкотемпературной плазмы атмосферного давления. Преимуществами метода являются малая глубина проникновения частиц плазмы и изменение свойств только поверхностного слоя материала без существенной тепловой нагрузки [6]. Возможно, использование гидрофильных трековых мембран с дополнительным наслоением на их поверхность пренатальных стромальных клеток человека при лечении ЭЭД роговицы позволит стабилизировать течение заболевания.

Цель работы – изучить возможность применения трековых мембран, в том числе модифицированных холодной плазмой, с последующим наслоением на их поверхность культуры прена-

тальных стромальных клеток человека для коррекции эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы в эксперименте.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы трековых мембран (ТМ) изготавливались путем обработки ионами <sup>40</sup>Ar<sup>+8</sup> и химического травления пленки ПЭТФ. Модификацию поверхности полученных мембран проводили в НИ ТПУ с использованием экспериментальной установки низкотемпературной плазмы атмосферного давления. Время обработки – 30 с. Пленки стерилизовали посредством  $\gamma$ -облучения радионуклидом <sup>60</sup>Co в дозе 1 кГр (Si). Физико-химическое тестирование ТМ проводилось по стандартной методике.

Изучение *in vivo* биосовместимости ТМ осуществлялось на 16 кроликах породы *Sylvilagus bachmani* массой 3,5–4,0 кг. Каждому животному предварительно моделировали ЭЭД роговицы путем механического повреждения и удаления заднего эпителия одного из глаз. Через 2 нед после развития заболевания кролики в зависимости от планируемого лечения были разделены на четыре группы. Группа 1 (контрольная) – 4 кролика с ЭЭД роговицы (4 глаза); группа 2 – 4 животных с ЭЭД (4 глаза), которым в строму роговой оболочки имплантировали немодифицированную плазмой ТМ; группа 3 – 4 животных с ЭЭД (4 глаза), которым имплантировали в роговицу немодифицированную плазмой ТМ с наслоением на поверхность культурой пренатальных стромальных клеток (ПСК) человека; группа 4 – 4 животных с ЭЭД (4 глаза), которым имплантировали модифицированную плазмой ТМ с наслоением на поверхность культурой ПСК человека.

На ТМ предварительно высаживали культуру ПСК, выделенную в 2004 г. из легкого 11-недельного эмбриона человека и поддерживаемую

*ex vivo* (линия FL-42, ООО «Банк стволовых клеток», г. Томск). Стерильные ТМ помещали в лунки 24-луночных культуральных планшетов (Orange Scientific, Бельгия), содержащие взвесь ПСК человека в концентрации  $3 \times 10^4$  жизнеспособных кариоцитов в 1 мл полной культуральной среды. Через 72 ч культивирования при 37 °С и 100%-й влажности в воздушной атмосфере (после достижения клеточного монослоя) ТМ с наслоенной культурой ПСК человека имплантировали кроликам 3-й и 4-й групп.

Имплантация ТМ осуществлялась в условиях операционной на фоне наркоза (внутривенное введение золетила (Virbac Sante Animale, Франция), 15 мг/кг). После обработки операционного поля с соблюдением правил асептики и антисептики в роговице животных с предварительно индуцированной ЭД формировали два тоннельных (до глубоких слоев стромы) надреза в 1,5 мм от лимба к центру роговицы шириной 1,2 мм с ориентацией на 3 и 9 ч. С помощью шпателя через оба тоннельных надреза формировали интрастромальный «карман» в собственном веществе роговицы. Далее в один из тоннельных надрезов вводили цанговый пинцет, проводя его сквозь расслоенное собственное вещество «кармана», и выводили через противоположный тоннельный надрез, где браншами пинцета захватывали свернутую валиком ТМ. Во время обратного движения пинцета ТМ имплантировали в интрастромальный «карман» роговицы. С помощью шпателя ТМ аккуратно расправляли. Адаптацию краев тоннельных надрезов обеспечивали путем гидратации.

Спустя 8 нед от начала исследования кроликов выводили из эксперимента, выполняли энуклеацию оперированных глаз, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Умерщвление экспериментальных животных осуществляли с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609ЕЕС) и Хельсинской декларации.

Срезы роговицы окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван Гизона и полихромным красителем по Маллори. Для подсчета числа фибробластов, удельного объема сосудов, площади отека и параметров клеточной лейкоцитарной инфильтрации (количество лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов) в полученных срезах использовали световой микроскоп ЛОМО Биолам АУ-12 (Россия), окуляры  $\times 7$ ,  $\times 40$ ,  $\times 90$ , собственное увеличение микроскопа  $\times 1,5$ , окулярную сетку Автандилова на 50 точек, окулярную вставку с известной площадью. Морфометрию срезов

проводили с помощью компьютерной программы ImageJ 1.46.

Для статистического анализа полученных результатов применялся статистический пакет IBMSPSS Statistics 20. Рассчитывали следующие параметры выборок: медиану  $Me$ , 25%-й и 75%-й квартили. Результаты представлены в виде  $Me (Q_1-Q_3)$ , а также  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение,  $m$  – ошибка среднего. Для оценки исходной сопоставимости экспериментальных групп для количественных данных применяли критерий Краскала – Уоллиса, для номинальных – точный  $F$ -критерий Фишера. Анализ динамики показателей проводили с помощью парного критерия Вилкоксона. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали  $U$ -критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам световой микроскопии, через 8 нед от начала эксперимента у животных 1-й группы (контроль) в переднем эпителии роговицы обнаруживались клетки с признаками гидропической дегенерации. В собственном веществе наблюдался неравномерно выраженный отек (удельный объем  $(28,3 \pm 10,1)\%$ ), в передней трети – новообразованные сосуды (удельный объем  $(2,5 \pm 1,9)\%$ ), умеренная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 1, таблица). Набухшие коллагеновые волокна располагались рыхло. Передняя и задняя пограничные мембраны имели нормальное строение. Задний эпителий частично отсутствовал, частично был замещен клетками отростчатой формы.

У животных 2-й группы обнаруживались выраженный отек собственного вещества (удельный объем  $(18,83 \pm 5,8)\%$ ), разволокнение и нарушение тинкториальных свойств коллагеновых волокон преимущественно вокруг ТМ. Удельный объем новообразованных сосудов составлял  $(3,2 \pm 2,3)\%$  (рис. 2, см. таблицу). Между передним эпителием роговицы и ТМ коллагеновые волокна располагались более компактно. Между задним эпителием и ТМ обнаруживалась грануляционная ткань. Передний и задний эпителий, а также передняя и задняя пограничные мембраны были без особенностей и соответствовали строению таковых у животных 1-й группы.

В 3-й группе передний эпителий роговицы был сохранен на всем протяжении. Непосредственно под передней пограничной мембраной, которая слабо просматривалась, в собственном веществе обнаруживались скопления фибробластов ( $(133 \pm 26)$  клеток в поле зрения) (см. таблицу).

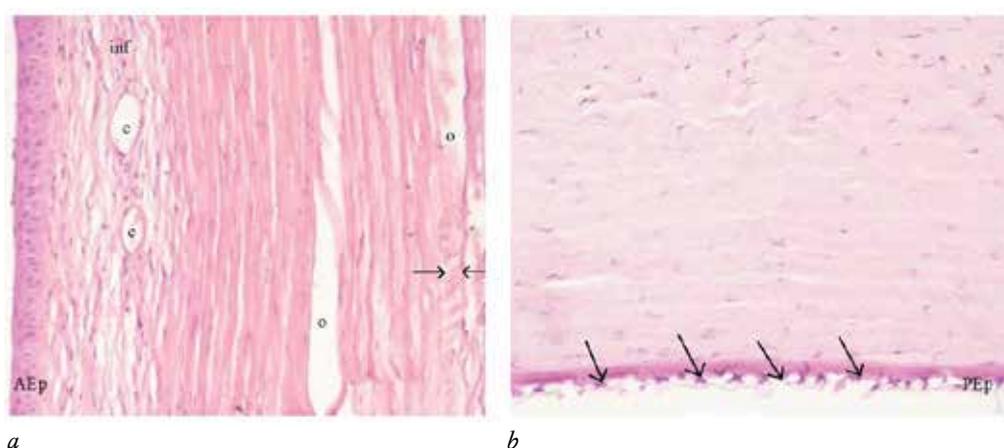


Рис. 1. Фрагмент роговицы кролика 1-й группы: передний (а) и задний (б) отделы, отек (о), гидратированные коллагеновые волокна (горизонтальные стрелки), новообразованные сосуды (с), клеточная инфильтрация (инф), отростчатые клетки (косые стрелки) на месте заднего эпителия (ЗЭп), ПЭп – передний эпителий. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$

Fig. 1. Anterior (a) and posterior (b) epithelium of the cornea of the 1st group: edema (o), hydrated collagen fibers (horizontal arrows), newly formed vessels (c), cellular infiltration (inf), process-shaped cells (slanting arrows). Stained with hematoxylin and eosin,  $\times 200$

Таблица  
Table

Морфометрические показатели посттравматической реакции роговицы спустя 6 нед от начала моделирования эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы,  
Morphometric indicators of the posttraumatic reaction of the cornea 6 weeks after the start of modelling endothelial epithelial dystrophy,  $Me (Q_1-Q_3)$

№ группы Group No	Группа животных Group of animals	Толщина роговицы, Мкм Corneal thickness, mcm	Отек, уд. объем, % Edema, specific volume, %	Сосуды, уд. объем, % Vessels, pecific volume, %	Фибробласты, клеток в поле зрения, $\times 200$ Fibroblasts, number of cells per vision field, $\times 200$	Лейкоцитарная инфильтрация, число клеток в поле зрения, $\times 200$ Leukocyte infiltration, number of cells per vision field, $\times 200$			
						Лимфоциты Lymphocytes	Моноциты Mono-cytes	Эозинофилы Eosino-phils	Базофилы Baso-phils
1	ЭЭД роговицы (контроль) ВК Control BK	650 (645–655)	28,3 (26–30)	2,5 (2,3–2,7)	54,3 (51–58)	10,8 (9–11,8)	4,6 (3–5,3)	0,2 (0,1–0,3)	0
2	ЭЭД роговицы + ТМ ВК + ТМ	628* (622–634) $p_1 < 0,05$	18,83* (16–19,3) $p_1 < 0,05$	3,2 (3,1–5,5)	90,1* (86,3–93,7) $p_1 < 0,05$	37,3* (35,6–38,1) $p_1 < 0,05$	8,3 (7–9,9)	11,6* (9,8–12,3) $p_1 < 0,05$	1,1* (0,9–1,3) $p_1 < 0,05$
3	ЭЭД роговицы + ТМ с ПСК ВК + ТМ with PSC	599* (597–603) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	14,4* (12,9–15,8) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	6,52 (6–6,8)	132,8* (129,8–134) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	28,3* (26,8–29,9) $p_1 < 0,05$	3,6 (3,5–3,8)	34,3* (30,1–36,4) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	3,0* (2,6–3,4) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
4	ЭЭД роговицы + модифицированная плазмой ТМ с ПСК ВК + plasma modified TM with PSC	605* (603–607) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	12,58* (10,8–13,5) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	5,35 (5,1–5,5)	159,9* (155,9–163,1) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	23,3* (20,8–27,1) $p_1 < 0,05$	6,0 (5,7–6,3)	49,3* (46–53) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	6,1* (5,7–6,5) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$

Примечание. ЭЭД – модель эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы; ТМ – трековая мембрана; ПСК – пренатальные стромальные клетки.

\*  $p_{1-3}$  – статистически значимые различия по сравнению с соответствующими группами исследования (U-критерий Манна – Уитни).

Note. BK – the model of bullous keratopathy; TM – track etched-membrane.

\*  $p_{1-3}$  – statistically significant differences compared to the groups 1–3 according to the U-test.

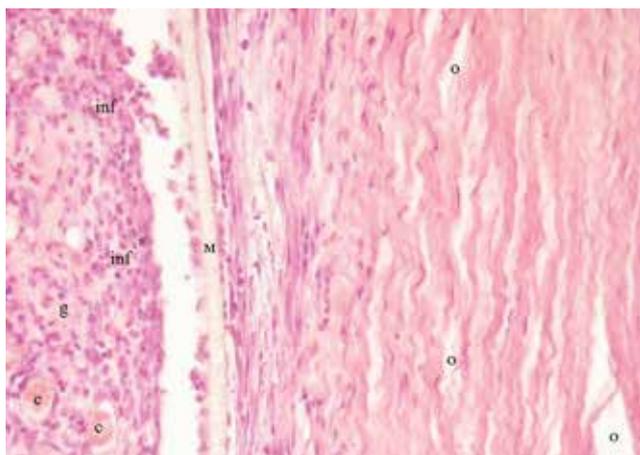


Рис. 2. Фрагмент роговицы кролика 2-й группы: грануляционная ткань (гр), неравномерно выраженный интерстициальный отек (о), полнокровие новообразованных сосудов (с), клеточная инфильтрация (инф) в месте имплантации трековой мембраны (М). Окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 2. The corneal fragment of the rabbit from the 2<sup>nd</sup> group: granulation tissue (g), irregularly pronounced edema (o), full-blooded newly-formed vessels (c), cellular infiltration (inf) at the site of implantation of the TM (M). Stained with hematoxylin and eosin, ×200

На поверхности ТМ наблюдались единичные клетки фибробластоподобной формы (рис. 3). В собственном веществе роговицы выявлялись неравномерно выраженный отек (удельный объем (14,4 ± 6,3)%), новообразованные сосуды (удельный объем (6,52 ± 3,9)%), лимфо-лейкоцитарная инфильтрация (см. таблицу). Вблизи ТМ располагались набухшие, рыхлые коллагеновые волокна. Задняя пограничная мембрана имела нормальное строе-

ние. Строение заднего эпителия было сходным с таковым у кроликов 1-й, 2-й групп.

У кроликов 4-й группы передний эпителий имел нормальное строение. Под нечетко просматриваемой передней пограничной мембраной, как и в 3-й группе, выявлялись скопления фибробластов ((159,9 ± 35) клеток в поле зрения) (рис. 4, см. таблицу).

На поверхности ТМ наблюдались единичные клетки фибробластоподобной формы. Отек собственного вещества был незначителен (удельный объем (12,58 ± 5,1)%) (см. таблицу). На отдельных участках коллагеновые волокна располагались рыхло. Задняя пограничная мембрана – без особенностей. Строение заднего эпителия было сходным с таковым у кроликов 1-, 2-, 3-й групп.

Согласно результатам исследования, имплантация ТМ в собственное вещество роговицы при ЭЭД роговой оболочки способствует уменьшению (в 1,5 раза) отека ее собственного вещества и более интенсивному (в 1,7 раза) накоплению фибробластов вблизи ТМ по сравнению с состоянием роговицы в группе модели заболевания без лечения. Наличие ПСК человека на поверхности ТМ независимо от исходного состояния полимерного материала после интрастромальной имплантации индуцирует пролиферацию фибробластов в 1,5–1,8 раза и неоваскуляризацию собственного вещества роговицы в 1,8–2,0 раза по сравнению с имплантацией ТМ без культуры клеток. Степень гидратации собственного вещества роговой оболочки при этом уменьшается в 1,3–1,5 раза. Модификация ТМ холодной плазмой не оказывает влияния на изученные морфометрические показатели роговицы (см. таблицу).

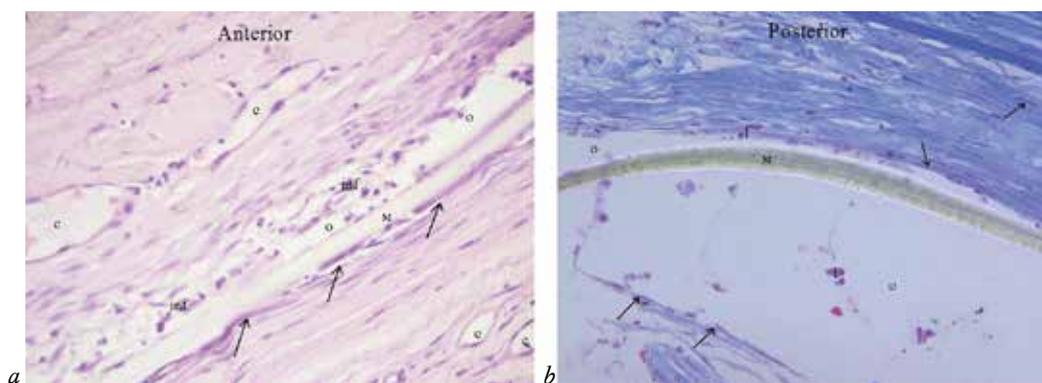


Рис. 3. Фрагмент роговицы кролика 3-й группы: выраженный отек (о), новообразованные сосуды (с), единичные лейкоциты (л), клеточная инфильтрация (инф) собственного вещества роговицы и фибробласты (стрелки) на поверхности трековой мембраны (М). Окраска гематоксилином и эозином (а), полихромным красителем по Маллори (b), ×200

Fig. 3. The corneal fragment of the rabbit from 3<sup>rd</sup> group: irregular edema (o), new blood vessels (c), single leukocytes (l), cellular infiltration (inf) of corneal stroma and fibroblasts (arrows) on the surface of TM (M) in the 3<sup>rd</sup> group. Stained with hematoxylin and eosin (a) and Mallory polychrome dye (b), ×200

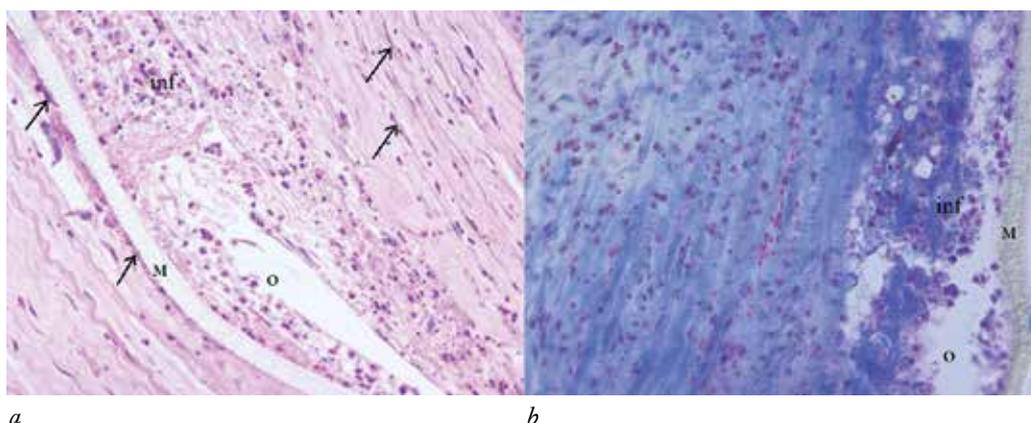


Рис. 4. Фрагмент роговицы кролика 4-й группы: фибробласты (стрелки) в собственном веществе роговицы и на поверхности трековой мембраны (М), инфильтрация (инф), отек (о). Окраска гематоксилином и эозином (а) и полихромным красителем по Маллори (b),  $\times 200$

Fig. 4. Fibroblasts (arrows) in the cornea stroma, TM (M), leukocyte infiltration (inf), edema (o) in the 4<sup>th</sup> group. Stained with hematoxylin and eosin (a) and Mallory polychrome dye (b),  $\times 200$

## ВЫВОДЫ

1. Имплантация трековой мембраны из полиэтилентерефталата при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы способствует развитию продуктивной фазы инфильтративного воспаления в роговице кроликов.

2. Предварительная *in vitro* адгезия пренатальных стромальных клеток человека на трековые мембраны независимо от исходного состояния полимерного материала уменьшает выраженность деструктивных изменений роговицы кролика при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговой оболочки.

3. Модификация трековых мембран холодной плазмой не влияет на изученные морфометрические показатели роговицы кроликов при эндотелиально-эпителиальной дистрофии данной оболочки.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Agarwal A., Narang P., Kumar D.A., Agarwal A. Young donor – graftassisted endothelial keratoplasty (PDEK/DMEK) with epithelial debridement for chronic pseudophakic bullous keratopathy. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2017; 5: 519–526. DOI: 10.1016/j.jcjo.2017.03.004.
2. Shulman J., Kropinak M., Ritterband D.C. Failed descemet-stripping automated endothelial keratoplasty grafts: a clinicopathologic analysis. *American Journal of Ophthalmology*. 2009; 148 (5): 752–759. DOI: 10.1016/j.ajo.2009.06.023.
3. Terry M.A., Shamie N., Chen E.S. Endothelial keratoplasty: the influence of donor endothelial cell densities on dislocation, primary graft failure, and 1-year cell counts. *Cornea*. 2008; 27 (10): 1131–1137. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181814cbc.
4. Миронюк А.В., Придатко А.В., Сиволапов П.В., Сви-дерский В.А. Особенности оценки смачивания полимерных поверхностей. *Технологии органических и неорганических веществ. Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. 2014; 1 (6): 23–26. [Mironyuk A.V., Pridatko A.V., Sivolapov P.V., Sviderskiy V.A. Features of evaluation of polymer surface wetting. *Technology of organic and inorganic substances. East European Journal of Advanced Technology*. 2014; 1 (6): 23–26 (in Russ.)].
5. Alonso J.G., Dalmolin C., Nahorny J., Recco A.A.C., Fontana L.C., Becker D. Active screen plasma system applied to polymer surface modification: Poly(lactic acid) surface activation before polyaniline graft polymerization in aqueous medium. *Journal of Polymer Engineering*. 2018; 38: 795–802. DOI: 10.1515/polyeng-2017-0298.
6. Jacobs T., Declercq H., De Geyter N., Cornelissen R., Dubruel P., Leys C., Beaurain A., Payen E., Morent R. Plasma surface modification of polylactic acid to promote interaction with fibroblasts. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2013; 24: 469–478. DOI: 10.1007/s10856-012-4807-z.

## Вклад авторов

Филиппова Е.О. – проведение исследований, анализ полученного материала, написание статьи. Кривошеина О.И. – проведение исследований. Пичугин В.Ф. –

## Authors contribution

Filippova E.O. – carrying out of the research, analysis of the material, drafting of the manuscript. Krivosheina O.I. – carrying out of the research. Pichugin V.F. – analysis of the

анализ полученного материала, написание статьи. Хлусов И.А. – проведение исследований (исследования *in vitro*), анализ полученного материала, написание статьи. Дзюман А.Н. – окрашивание препаратов. Зайцев К.В. – проведение исследований *in vitro*.

material, drafting of the manuscript. Khlusov I.A. – carrying out of the research (*in vitro*), analysis of the material, drafting of the manuscript. Dzyuman A.N. – staining. Zaitsev K.V. – carrying out of the research *in vitro*.

## Сведения об авторах

**Филиппова Екатерина Олеговна**, канд. тех. наук, инженер, НИ ТПУ; ассистент, кафедра офтальмологии, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-0425-1213.

**Кривошеина Ольга Ивановна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой офтальмологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

**Хлусов Игорь Альбертович**, д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; профессор, НИ ТПУ; ст. науч. сотрудник, экспериментальная лаборатория биомедицинских технологий, СибФНКЦ ФМБА России, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-3465-8452.

**Пичугин Владимир Федорович**, д-р физ.-мат. наук, профессор, НИ ТПУ, г. Томск.

**Дзюман Анна Николаевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-0795-0987.

**Зайцев Константин Васильевич**, канд. мед. наук, руководитель экспериментальной лаборатории биомедицинских технологий, СибФНКЦ ФМБА России, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-6504-5232.

(✉) **Хлусов Игорь Альбертович**, e-mail: khlusov63@mail.ru.

## Authors information

**Filippova Ekaterina O.**, PhD, Engineer, NR TPU; Assistant, Division of Ophthalmology, Division of Histology, Cytology and Embryology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-0425-1213.

**Krivosheina Olga I.**, DM, Professor, Head of the Division of Ophthalmology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

**Khlusov Igor A.**, DM, Professor, Division of Morphology and General Pathology, SSMU; Professor, NR TPU; Senior Researcher, Experimental Laboratory of Biomedical Technologies, Federal Siberian Research Clinical Center FMBA of Russia, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3465-8452.

**Pichugin Vladimir F.**, DPhMSc, Professor, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

**Dzyuman Anna N.**, PhD, Associate Professor, Division of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-0795-0987.

**Zaitsev Konstantin V.**, PhD, Head of the Experimental Laboratory of Biomedical Technologies, Federal Siberian Research Clinical Center FMBA of Russia, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-6504-5232.

(✉) **Khlusov Igor A.**, e-mail: khlusov63@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.04.2019

Подписана в печать 10.06.2019

Received 18.04.2019

Accepted 10.06.2019