

DOI: 10.15825/1995-1191-2017-1-74-81

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ВНУТРИРОГОВИЧНЫХ ЛИНЗ НА МОДЕЛИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК СТРОМЫ РОГОВИЦЫ ЧЕЛОВЕКА

Б.Э. Малюгин¹, С.А. Борзенок^{1, 2}, И.А. Мушкова¹, Д.С. Островский^{1, 3}, И.А. Попов¹,
Ю.В. Шкандина¹

¹ ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация

Цель. Изучить клеточную реакцию на различные материалы, потенциально пригодные для изготовления интракорнеальных линз. **Материалы и методы.** Проведено плоскостное (2D) культивирование клеток стромы роговицы человека в присутствии образцов различных опытных полимеров (гидроксиэтилметакрилат, олигоуретанметакрилат и полиметилметакрилат). В динамике оценивали количество клеток в различные сроки культивации. На основании полученных данных делали заключение о биосовместимости и адгезивных свойствах исследуемых материалов. **Результаты.** В каждой из экспериментальных групп отмечалась тенденция к планомерному увеличению количества клеток с 1-х к 6-м суткам наблюдения, форма кривых роста клеток указывала на отсутствие токсичности материалов и их способности не препятствовать пролиферации клеток. Пролиферация клеток в присутствии материалов гидроксиэтилметакрилат и олигоуретанметакрилат оказалась статистически достоверно ниже ($p < 0,001$), чем в присутствии полиметилметакрилата, что обосновывает предпочтительность их применения для имплантации в строму роговицы в оптической зоне. При сравнении полученных результатов на 6-е сутки клетки в присутствии имплантата из гидроксиэтилметакрилата проявили достоверно меньшую тенденцию к пролиферации, чем в присутствии олигоуретанметакрилата ($p < 0,001$). Однако данные различия были статистически достоверными не на всех сроках наблюдения. **Выводы.** На основании полученных результатов было показано отсутствие токсичности у опытных образцов материалов, а также их низкие адгезивные свойства по отношению к культуре клеток стромы роговицы, что подтверждает их потенциальную пригодность для интракорнеальной имплантации.

Ключевые слова: интракорнеальная линза, клеточное культивирование, пресбиопия, кератоциты, роговица, олигоуретанметакрилат, полиметилметакрилат, гидроксиэтилметакрилат.

Для корреспонденции: Борзенок Сергей Анатольевич. Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, 59а. Тел. (906) 710-84-25. E-mail: mdborzenok@yandex.ru.

For correspondence: Borzenok Sergey Anatol'evich. Address: 59a, Beskudnikovsky boul., Moscow, 127486, Russian Federation. Tel. (906) 710-84-25. E-mail: mdborzenok@yandex.ru

INVESTIGATION ON THE INTRACORNEAL LENS MATERIAL BIOCOMPATIBILITY USING THE MODEL OF THE CORNEAL STROMAL CELL CULTURE

B.E. Malyugin¹, S.A. Borzenok^{1, 2}, I.A. Mushkova¹, D.S. Ostrovskiy^{1, 3}, I.A. Popov¹, Yu.V. Shkandina¹

¹ The S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

³ The Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

Aim. To investigate cell reaction to different materials, potentially suitable for intracorneal lens (ICL) production. **Materials and methods.** A plane surface (2D) corneal stromal cell culture was performed in the presence of different experimental polymer samples, such as hydroxyethylmethacrylate, oligourethanemethacrylate and polymethylmethacrylate. The dynamics of cell numbers was evaluated over culture time. Conclusion on biocompatibility was made based on obtained data. **Results.** In each of the experimental groups there was a trend toward a steady increase in the number of cells from the 1st to 6th day of observation, the shapes of the cell growth curves showed no toxicity of materials and their ability not to interfere with cell proliferation. Cell proliferation in the contact to hydroxyethylmethacrylate and oligourethanemethacrylate materials was statistically significantly lower ($p < 0.001$) than in the presence of polymethylmethacrylate, which makes a strong case for their preferential usage for implantation into the stroma of the corneal optical area. When comparing the results obtained on the 6th day, the cells in the presence of the implant of hydroxyethylmethacrylate showed significantly less tendency to proliferate, than in the presence of oligourethanemethacrylate ($p < 0.001$). However, these differences were statistically significant not in all days. **Conclusions.** The results obtained have shown the absence of toxicity in experimental material samples and their low adhesive properties with respect to the stromal cell culture, thereby confirming its potential suitability for intracorneal implantation.

Key words: intracorneal lens, cell culture, presbyopia, keratocytes, cornea, oligourethanemethacrylate, polymethylmethacrylate, hydroxyethylmethacrylate.

АКТУАЛЬНОСТЬ

С ростом продолжительности жизни в мире наблюдается значительное увеличение количества людей с пресбиопией – постепенным естественным снижением способности глаза фокусироваться на близкорасположенных предметах, начиная с четвертой декады жизни человека [1, 2]. Имплантация интракорнеальных линз (ИКЛ) является динамично развивающимся направлением в хирургической коррекции пресбиопии [3]. ИКЛ – это устройства, выполненные из синтетического полимера, имеющие дисковидную форму, диаметр 1,5–2,0 мм и имплантируемые в центральную зону стромы роговицы с целью изменения ее оптической силы. На сегодня ИКЛ, разрешенных к использованию в клинической практике, в Российской Федерации не существует. Создание импортозамещающих технологий в части разработки и экспериментальной апробации отечественных ИКЛ представляется социально-значимым и актуальным.

В соответствии с клиническими требованиями материалы для изготовления ИКЛ должны быть биологически совместимыми, нетоксичными, небиорезорбируемыми, не подвергаться инкапсуляции в связи с бесконечно длительным пребыванием

в роговице, сохраняя заданную форму, оптические свойства и не вызывая интрастромальных помутнений [4, 5].

Прозрачность роговицы после имплантации может снижаться по разным причинам, наиболее существенной из которых является инкапсуляция ИКЛ. Выраженность инкапсуляции напрямую связана с адгезивными свойствами поверхности имплантата. Чем выше адгезивная способность клеток стромы роговицы (КСР) к поверхности изделия из исследуемого материала, тем более выражен фибропластический процесс [4, 6]. При этом происходит образование плотной капсулы, и как следствие, снижение прозрачности роговицы. Актуальным представляется поиск биосовместимого материала, инертного по отношению к ткани стромы роговицы, в присутствии которого КСР обладали бы сниженной тенденцией к адгезии и пролиферации [7].

Одним из первых имплантируемых материалов в офтальмохирургии явился полимер на основе метилметакрилата – полиметилметакрилат (ПММА) и его модификации [8, 9]. Инертность данного материала по отношению к тканям глаза доказана многолетним успешным опытом его применения в офтальмологической практике как на территории РФ,

Таблица 1

Объем опытной серии изделий для проведения работы
Amounts of the experimental examples prepared for the research

Материал	Производитель	Количество образцов
Гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА)	ООО «Научно-экспериментальное производство МГ» (Москва)	24
Олигоуретанметакрилат (ОУМА)	ООО «Репер-НН» (Нижний Новгород)	24
Полиметилметакрилат (ПММА)	ООО «Экспериментально-техническое производство» (Москва)	24

так и за рубежом [10–13]. Примечательным является успешное использование данного материала в виде интрастромальных роговичных сегментов, которые обычно имплантируются в относительно толстую периферическую часть роговицы [14]. Однако при имплантации изделий из ПММА в наиболее тонкую – оптическую зону роговицы возможно развитие асептического некроза над линзой, формирование грубого рубца с последующим выпадением имплантата [15–17], что объясняется авторами водонепроницаемостью и жесткостью материала.

Среди доступных эластичных материалов, имеющих положительный опыт применения в офтальмохирургии (ИОЛ, внутрикапсульные кольца, роговичные сегменты), в данной работе были выбраны два полимера, обладающие высокой эластичностью, проницаемостью и оптической прозрачностью – гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА) и олигоуретанметакрилат (ОУМА) [18, 19]. Данные материалы представляются потенциально пригодными для создания ИКЛ для интракорнеальной имплантации,



Рис. 1. Опытный образец полимерного материала в форме «шайбы»

Fig. 1. An experimental example of polymer material shaped as a «puck»

что требует доклинического исследования биологической совместимости с тканью стромы роговицы.

Цель исследования: на модели двухмерной клеточной культуры изучить клеточную реакцию на различные материалы, потенциально пригодные для изготовления интракорнеальных линз – ГЭМА и ОУМА, в сравнении с клеточной реакцией на известный материал – ПММА.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Качественно оценить характер кривых роста КСР при их контакте с полимерными материалами на основе ОУМА, ГЭМА и ПММА.
2. Дать сравнительную количественную оценку клеточному росту в различные сроки культивирования в присутствии исследуемых полимеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ*

Исследуемые химические материалы

Для постановки эксперимента производителями были изготовлены опытные образцы исследуемых полимерных материалов (табл. 1).

Полученные образцы были изготовлены в форме «шайб» высотой 0,5 мм и диаметром 10 мм (рис. 1). Их геометрические параметры были определены эмпирически, при этом площадь поверхности «шайбы» выбранного диаметра представлялась достаточной для пролиферации клеток, а высота «шайб» – технически доступной для изготовления.

Культура клеток стромы роговицы**

В качестве источника клеточного материала использовали корнеосклеральный диск трупного донорского глаза без роговичного эпителия, предоставленный Глазным тканевым банком МНТК «Микрохирургия глаза», не востребованного для целей трансплантации. Параметры донора: возраст – 48 лет, время от момента смерти – 18 часов, показатели трансплантативности донорского мате-

* Исследования выполнялись в Центре фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем (руководитель – д. м. н. проф. С.А. Борзенко) МНТК «Микрохирургия глаза».

** Экспериментальные исследования на трупном донорском материале были проведены в соответствии с нормативно-правовыми актами и законодательством РФ.

риала 2В (материал жизнеспособный) по классификации С.А. Борзенка [20]. Протокол выделения КСР заключался в следующих этапах:

1. Выкраивание центральной зоны роговицы трепаном 16 мм.
2. Удаление заднего эпителия роговицы микрохирургическим пинцетом.
3. Механическая дезагрегация роговицы хирургическими ножницами.
4. Химическая дезагрегация роговицы в растворе коллагеназы 2-го типа (ПанЭко, Россия).
5. Центрифугирование в режиме 1800 об/мин (центрифуга SL-40 R, ThermoScientific, Германия).
6. Перенос взвеси клеток в чашку Петри диаметром 35 мм с 2 мл питательной среды на основе DMEM/F12 (ПанЭко, Россия; 89%) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США; 10%) и смеси антибиотиков (MP Biomedicals, США; 1%).

В результате получали первичную 2D-культуру КСР. Культивирование проводили в стандартных условиях (температура 37 °С, концентрация CO₂ – 5%, влажность – 95%) в инкубаторе NU-5510 (Nu-Aire, США). Питательную среду заменяли раз в три дня. Для получения необходимого для экспериментальной работы количества клеток (около 2 млн) культуру пассировали по стандартной схеме [21] в чашках Петри диаметром 100 мм, получая, таким образом, несколько культур 3-го и 4-го пассажей.

Для экспериментальных исследований культуру клеток извлекали из культуральной посуды. Для этого культуру клеток промывали фосфатным буфером (рН 7,4), добавляли 2 мл смеси 0,25% раствора трипсина – этилендиаминтетрауксусной кислоты и раствора Версена (1:1 по объему) и инкубировали в стандартных условиях в течение 5–10 минут; суспензию отделившихся от субстрата клеток переносили в центрифужную пробирку, в которую для нейтрализации ферментативной смеси добавляли 1 мл FBS и центрифугировали в режиме 1800 об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость удаляли. Осадок разбавляли 1 мл питательной среды и переносили в пробирку 15 мл (Corning, США). Концентрацию суспензии оценивали в камере Горяева

(МикМед, Россия), после чего суспензию разбавляли питательной средой с таким расчетом, чтобы получить требуемую концентрацию клеток (20 тыс. клеток в 1 мл питательной среды).

Наблюдение за клеточными культурами и подсчет клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа IX-81 (Olympus, Япония).

Формирование экспериментальных групп

Были сформированы 4 экспериментальные группы (2 опытные: O₁, O₂ и 2 контрольные: K₁, K₂) (табл. 2). Группа O₁ включала опытные образцы, изготовленные из полимерного материала на основе ГЭМА, O₂ – опытные образцы, изготовленные из полимерного материала на основе ОУМА. Группа K₁ служила контролем для материалов, в нее включали опытные образцы из полимерного материала на основе ПММА.

В группах O₁, O₂ и K₁ предоставленные производителями образцы полимерных материалов в форме «шайб» укладывали на дно лунок стандартных культуральных 24-луночных планшетов для культивирования (изготовлены из полистирола) (Costar, США) по одному образцу в лунку, после чего сверху добавляли суспензию КСР человека (рис. 2, а) в количестве 20 тыс. клеток на 1 мл питательной среды. В группе K₂ суспензию клеток в таком же количестве вносили в пустую лунку такого же планшета. Данная группа была сформирована с целью контроля роста клеточной культуры (рис. 2, б).

Всего в эксперимент было введено свыше 1,9 миллиона клеток стромы донорской роговицы (табл. 2).

Культивирование проводили по описанной ранее схеме в течение 6 суток, питательную среду меняли однократно на третий день культивирования. Ежедневно суспензию КСР извлекали по описанной методике из 4 лунок планшетов каждой из экспериментальных групп (O₁, O₂, K₁ и K₂). Для этого клетки из каждой лунки отделяли ферментативно, центрифугировали, разбавляли осадок в 1 мл питательной среды (по схеме, описанной выше). Образец суспензии объемом 20 мкл использовали для подсчета клеток в камере Горяева.

Таблица 2

Распределение клеток стромы роговицы по экспериментальным группам
Distribution of corneal stromal cells by experimental groups

Группа	O ₁	O ₂	K ₁	K ₂
Количество экспериментальных образцов	24	24	24	–
Исследуемый полимерный материал	Гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА)	Олигоуретанметакрилат (ОУМА)	Полиметилметакрилат (ПММА)	Полистирол
Использованное количество клеток стромы роговицы, тыс. клеток (20 тыс. клеток/лунка)	480	480	480	480

При подсчете КСР в экспериментальных группах учитывали только те клетки, которые на момент исследования были прикреплены к подлежащему субстрату (опытные образцы материалов, дно лунки). Неприкрепленные КСР извлекали вместе с питательной средой при ферментативной обработке.

Обработка данных

Обработку данных проводили при помощи программного обеспечения Statistica 7.0 (Statsoft) и Excel (Microsoft Office).

Ежедневно из четырех лунок планшета каждой группы извлекали КСР, подсчитывали и вычисляли среднее значение и его стандартное квадратичное отклонение.

Качественную оценку биологической совместимости исследуемых материалов формировали по форме кривых клеточного роста на основании известных критериев биосовместимости [3].

При количественной оценке числовые значения клеток в группах сравнивались друг с другом в соответствующие сроки наблюдения.

Использовали статистический критерий Стьюдента t, различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Количество КСР в экспериментальных группах в различные сроки наблюдения представлено в табл. 3 и на рис. 3.

Графики, отражающие динамику изменения количества клеток в различные сроки культивирования, во всех экспериментальных группах имели S-образную форму. Начиная со 2-х суток наблюдался экспоненциальный рост количества клеток. На 5–6-е сутки клеточное деление замедлялось, и графики в экспериментальных группах выходили на фазу плато.

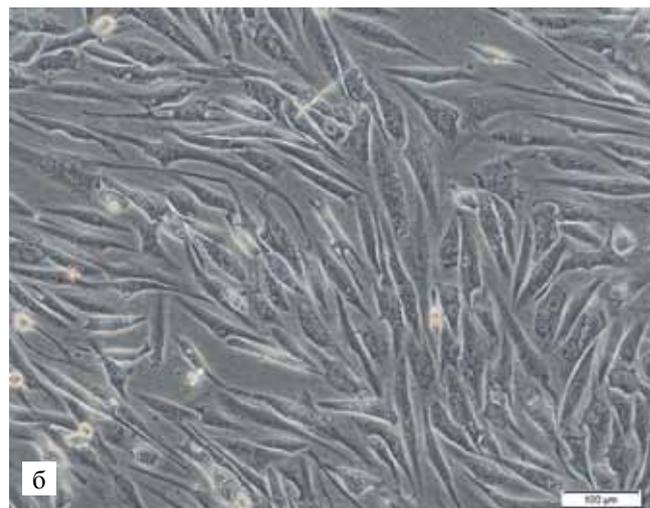
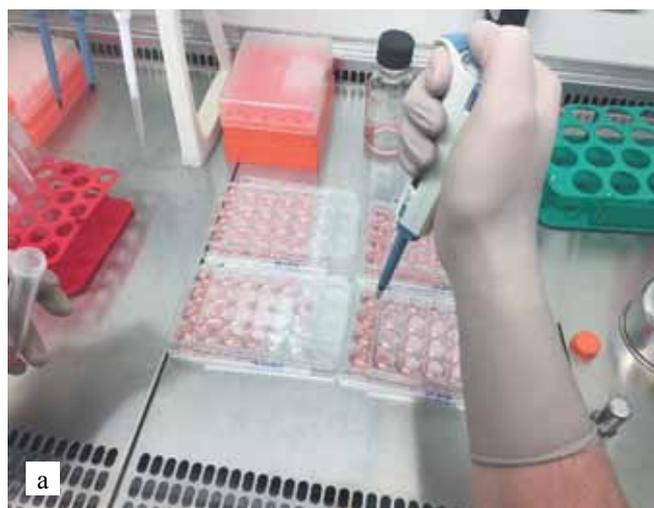


Рис. 2. Культивирование стромы роговицы: а – введение суспензии КСР в лунки культуральных планшетов; б – клеточная культура КСР на 3-и сутки наблюдения, группа К₂

Fig. 2: а – Injection of corneal stromal cells (CSCs) into the wells of culture plates; б – CSC culture, 3rd day of observation, K₂ group

Таблица 3

Распределение количества клеток в экспериментальных группах по срокам наблюдения, тыс. клеток ± стандартное квадратичное отклонение; объем выборки в каждой ячейке n = 4

Distribution of cells in experimental groups according to the terms of observation, thousands of cells ± mean square distribution; in each case sample size n = 4

Сутки наблюдения	Группа			
	O ₁	O ₂	K ₁	K ₂
1	10,42 ± 1,31	12,44 ± 0,96	15,67 ± 0,49	15,08 ± 0,9
2	22,19 ± 1,97	25,67 ± 1,07	30,25 ± 0,45	35,44 ± 1,71
3	38,56 ± 1,75	44,50 ± 1,24	120,17 ± 2,17	96,50 ± 3,92
4	71,00 ± 1,76	76,19 ± 1,52	179,00 ± 0,93	160,33 ± 2,77
5	93,81 ± 2,93	101,0 ± 11,74	242,33 ± 4,56	231,44 ± 6,61
6	128,0 ± 3,13	182,75 ± 6,58	261,75 ± 9,44	253,42 ± 6,14

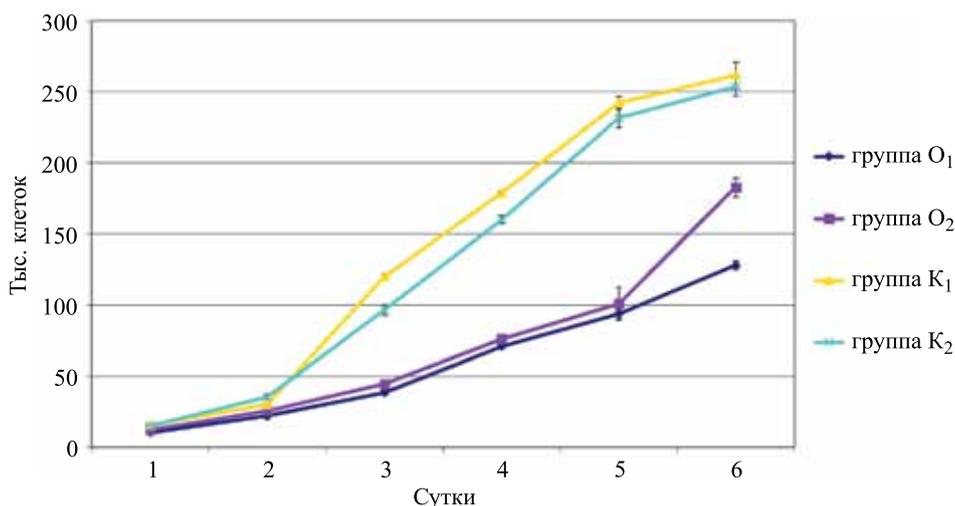


Рис. 3. Динамика изменения количества клеток стромы роговицы в присутствии полимерных материалов (группы O₁, O₂ и K₁) и в их отсутствие (K₂)

Fig. 3. CSCs amount change dynamics in the presence of polymer materials (O₁, O₂, K₁ groups) and in their absence (K₂ group)

Таблица 4

Распределение значения критерия статистической достоверности p полученных результатов в исследуемых группах в различные сроки наблюдения

Distribution of p-values in the research groups over the observation terms

Сутки	Сравниваемые группы					
	O ₁ и O ₂	O ₁ и K ₁	O ₁ и K ₂	O ₂ и K ₁	O ₂ и K ₂	K ₁ и K ₂
1	0,3	0,001*	0,008*	0,006*	0,05*	0,5
2	0,1	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,007*
3	0,01*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
4	0,03*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
5	0,5	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,2
6	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,4

Примечание. * – $p < 0,05$, статистически значимые различия, t-критерий Стьюдента.

Различия в полученных числовых значениях в исследуемых группах в соответствующие сроки наблюдения подвергли статистической обработке (табл. 4).

Количество клеток на 6-е сутки было достоверно меньше в опытных группах по сравнению с группой сравнения K₁ (ПММА): в группе O₁ (ГЭМА) – в 2,04 раза ($p < 0,001$), в группе O₂ (ОУМА) – в 1,43 раза ($p < 0,001$). При сравнении полученных результатов в опытных группах на 6-е сутки в группе O₁ было достоверно меньшее количество КСР ($p < 0,001$), чем в группе O₂.

Количество КСР в опытных группах (O₁ и O₂) на протяжении всего эксперимента было достоверно меньшим ($p < 0,05$), чем в контрольных группах (K₁ и K₂). Различия числовых значений в опытных группах (O₁ и O₂) оказались статистически достоверными не во всех сроках наблюдения (1, 2 и 5-е сутки – $p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемым результатом 2D-клеточного культивирования являлось доказательство нетоксичной природы исследуемых материалов. Действительно, в каждой из экспериментальных групп была отмечена тенденция к планомерному увеличению количества клеток с 1-х к 6-м суткам наблюдения, что говорит о пролиферации КСР. В случае токсичности материалов графики (рис. 4) стремились бы к нулю. При сравнении полученных результатов в группе K₂ (без использования образцов материалов) с группами O₁, O₂, K₁ наблюдалась сходная картина экспоненциального роста количества КСР, что говорит о нетоксичной природе всех исследованных материалов (ГЭМА, ОУМА и ПММА) по отношению к основному клеточному элементу стромы роговицы – КСР.

При анализе табл. 3 и 4 обнаружили, что количество клеток на 6-е сутки наблюдения в опытных группах было достоверно меньше ($p < 0,001$), чем в

группе K_1 , в которой исследовали биосовместимый полимер ПММА с известными свойствами. В полученных числовых значениях учитывали только те клетки, которые были прикреплены к подлежащему субстрату (опытные образцы материалов), в связи с чем можно предположить, что адгезивная способность КСР к материалам ГЭМА и ОУМА ниже, чем к ПММА.

Количество КСР в опытных группах (O_1 и O_2) на протяжении всего эксперимента было достоверно меньшим ($p < 0,05$), чем в группе K_2 , что подтверждает наличие низкоадгезивных свойств у исследуемых полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА) и может рассматриваться как положительное свойство при интракорнеальной имплантации. В то же время пролиферация клеток в присутствии ПММА приближалась к таковой в группе сравнения K_2 . Таким образом, есть основания считать полимеры ГЭМА и ОУМА более предпочтительными для интракорнеальной имплантации в оптической зоне, чем материал ПММА.

При сравнении полученных результатов в опытных группах на 6-е сутки оказалось, что материал ГЭМА проявил меньшую тенденцию к адгезии клеток, чем ОУМА ($p < 0,001$). Вместе с тем различия количеств клеток в опытных группах (O_1 и O_2) оказались статистически достоверными не во всех сроках наблюдения (на 1, 2 и 5-е сутки – $p > 0,05$, на 3-и, 4-е и 6-е сутки – $p < 0,05$), в связи с чем представляется возможным проведение дальнейшего углубленного сравнения материалов ГЭМА и ОУМА на доклинических моделях *in vivo*, если выявление тонких различий в биосовместимости этих материалов будет представлять практический интерес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного 2D-культивирования клеток стромы роговицы человека в присутствии полимеров на основе ОУМА, ГЭМА и ПММА были доказаны: 1) нетоксичность исследованных полимеров; 2) более низкая способность материалов ГЭМА и ОУМА обеспечивать адгезию КСР по сравнению с ПММА. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной безопасности и пригодности материалов ГЭМА и ОУМА к интракорнеальной имплантации. Однако вопрос тонких различий в их биосовместимости остается открытым и может являться темой дальнейших исследований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 15-29-03882.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Мушкова ИА, Дога АВ, Бессарабов АН. Лазерная термомокератопластика: рефракционные и функциональ-

- ные результаты при коррекции гиперметропического и смешанного астигматизма. *Современные технологии в медицине*. 2011; 2: 47–51. Mushkova IA, Doga AV, Bessarabov AN. Lazernaya termokeratoplastika: refrakcionnye i funkcional'nye rezul'taty pri korrekcii gipermetropicheskogo i smeshannogo astigmatizma. *Sovremennye tekhnologii v medicine*. 2011; 2: 47–51.
2. Petrash JM. Aging and age-related diseases of the ocular lens and vitreous body. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013; 54 (14): ORSF54–ORSF59.
 3. Charman WN. Developments in the correction of presbyopia II: surgical approaches. *Ophthalmic and Physiological Optic.* 2014; 34: 1–30.
 4. Хенч Л, Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. М.: Техносфера, 2007. 304 с. Hench L, Dzhons D. Biomaterialy, iskusstvennyye organy i inzhiniring tkanej. М.: Tekhnosfera, 2007. 304.
 5. Багров СН, Маклакова ИА, Ларионов ЕВ, Тимошккина НТ, Медведев ИБ, Карамян АА и др. Способ улучшения биосовместимости интракорнеальных линз из гидрогелей с тканями роговицы методом насыщения их раствором гликозаминогликанов. Рацпредложение № 1174 от 10.06.98. *Офтальмохирургия*. 1999; 1: 71–72. Bagrov SN, Maklakova IA, Larionov EV, Timoshkina NT, Medvedev IB, Karamyani AA i dr. Sposob uluchsheniya biosovmestimosti intrakorneal'nyh linz iz gidrogelej s tkanyami rogovicy metodom nasyshcheniya ih rastvorom glikozaminoglikanov. Raccpredlozhenie № 1174 ot 10.06.98. *Oftal'mohirurgiya*. 1999; 1: 71–72.
 6. Семенов АД, Дога АВ, Мушкова ИА, Антонова ЕГ, Бессарабов АН. Лазерная термомокератопластика (ЛТК): calorиметрические, спектроскопические и морфологические исследования. *Офтальмохирургия*. 2005; 3: 4–11. Semenov AD, Doga AV, Mushkova IA, Antonova EG, Bessarabov AN. Lazernaya termokeratoplastika (LTK): calorimetriceskie, spektroskopicheskie i morfologicheskie issledovaniya. *Oftal'mohirurgiya*. 2005; 3: 4–11.
 7. Ahmad KA, Ahmad MR. A Review of Cell Adhesion Studies for Biomedical and Biological Applications. Tseng F-G, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16 (8): 18149–18184.
 8. Arlt EM, Krall EM, Moussa S, Grabner G, Dextl AK. Implantable inlay devices for presbyopia: the evidence to date. *Clin. Ophthalmol.* 2015; 9: 129–137.
 9. Amzallag T, Pynson J. Biomateriaux dans la chirurgie du cristallin. *J. Fr. Ophtalmol.* 2007 Sep; 30 (7): 757–767.
 10. Boxer Wachler BS, Chandra NS, Chou B, Korn TS, Nepomuceno R, Christie JP. Intacs for keratoconus. *Ophthalmology*. 2003; 110: 1031–1040.
 11. Daxer A. Adjustable intracorneal ring in a lamellar pocket for keratoconus. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2010; 26: 217–221.
 12. Andregretti E, Hashimoto M, Domingues MA, Antunes VA, Segundo PS, Silva MR. Biocompatibility of Ferrara intracorneal ring segment with and without chondroitin sulfate coating. Clinical and histopathological evaluation in rabbits. *Acta Cir. Bras.* 2013 Sep; 28 (9): 632–640.
 13. Pesando PM, Ghiringhello MP, Di Meglio G, Romeo S. Treatment of keratoconus with Ferrara ICRS and con-

- sideration of the efficacy of the Ferrara nomogram in a 5-year follow-up. *Eur. J. Ophthalmol.* 2010 Apr; 71: 20.
14. Малугин БЭ, Измайлова СБ, Поручикова ЕП, Семькин АЮ. Результаты комплексного лечения пациента с прозрачной маргинальной дегенерацией роговицы (клинический случай). *Офтальмохирургия.* 2015; 3: 47–53. Malyugin BEh, Izmajlova SB, Poruchikova EP, Semykin AYU. Rezul'taty kompleksnogo lecheniya pacienta s prozrachnoj marginal'noj degeneraciej rogovicy (klinicheskij sluchaj). *Oftal'mohirurgiya.* 2015; 3: 47–53.
 15. Краснов ММ. Первый опыт хирургического исправления близорукости и афакии методом рефракционной кератопластики (операции кератомилеза и кератофакии). *Вестник офтальмологии.* 1970; 2: 24–28. Krasnov MM. Pervyj opyt hirurgicheskogo ispravleniya blizorukosti i afakii metodom refrakcionnoj keratoplastiki (operacii keratomileza i keratofakii). *Vestnik oftal'mologii.* 1970; 2: 24–28.
 16. Федоров СН, Захаров ВД. Операции кератомилеза и кератофакии. *Вестник офтальмологии.* 1971; 2: 19–24. Fedorov SN, Zaharov VD. Operacii keratomileza i keratofakii. *Vestnik oftal'mologii.* 1971; 2: 19–24.
 17. Van Rij G. Alloplastic intracorneal lenses. *Refractive and Corneal Surg.* 1989; 5: 148–149.
 18. Мороз ЗИ, Леонтьева ГД, Новиков СВ, Гурбанов РС. Рефракционные результаты имплантации интрас-тримальных роговичных сегментов на основе гид-рогеля у пациентов с кератоконусом. *Офтальмохирургия.* 2009; 1: 14–17. Moroz ZI, Leont'eva GD, Novikov SV, Gurbanov RS. Refrakcionnye rezul'taty implantacii intrastromal'nyh rogovichnyh segmentov na osnove gidrogelya u pacientov s keratokonusom. *Oftal'mohirurgiya.* 2009; 1: 14–17.
 19. Малугин БЭ, Морозова ТА. Исторические аспекты и современное состояние проблемы мультифокальной интраокулярной коррекции. *Офтальмохирургия.* 2004; 3: 23–29. Malyugin BEh, Morozova TA. Istoricheskie aspekty i sovremennoe sostoyanie problemy mul'tifokal'noj intraokulyarnoj korrekcii. *Oftal'mohirurgiya.* 2004; 3: 23–29.
 20. Борзенко СА, Малугин БЭ, Гаврилова НА, Комах ЮА, Тонаева ХД. Алгоритм заготовки трупных роговиц человека для трансплантации. *Методические рекомендации.* Офтальмология. М., 2016. Borzenok SA, Malyugin BEh, Gavrilova NA, Komah YuA, Tonaeva HD. Algoritm zagotovki trupnyh rogovic cheloveka dlya transplantacii. *Metodicheskie rekomendacii.* *Oftal'mologiya.* М., 2016.
 21. Фрешни РЯ. Культура животных клеток. Практическое руководство: Пер. с англ. М.: Бином, 2010. 691 с. Freshni RYa. Kul'tura zhiivotnyh kletok. Prakticheskoe rukovodstvo: Per. s angl. М.: Binom, 2010. 691.

*Статья поступила в редакцию 12.12.2016 г.
The article was submitted to the journal on 12.12.2016*