

Модификация механической модели лимбальной недостаточности



А.В. Безушко*



А.С. Дубовиков



А.Н. Куликов



С.В. Чурашов



В.Ф. Черныш



А.А. Суетов



И.О. Гаврилюк

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2018;15(1):51-57

Актуальность. Заболевания поверхности глаза с нарушением функции лимбальных эпителиальных стволовых клеток объединяются термином «лимбальная недостаточность» (ЛН). Для экспериментального изучения регенеративных процессов и оценки эффективности новых методов лечения необходима модель ЛН. Предлагались различные модели ЛН: механическая, термическая, химическая, медикаментозная. Основными недостатками были относительная дороговизна и сложность выполнения. Механическая модель позволяет гарантированно удалить ткани, содержащие лимбальные эпителиальные стволовые клетки, и представляется наиболее приемлемой. В данном исследовании предлагается модификация механической модели ЛН у кроликов. **Цель:** создать стандартизированную механическую модель лимбальной недостаточности. **Материал и методы.** Экспериментальное исследование выполнено на 10 половозрелых кроликах (20 глаз) породы шиншилла, весом 2,5–3,5 кг. Под местной анестезией после 40-секундной аппликации фильтровальной бумаги, пропитанной 20%-ным этанолом, выполняли тотальное удаление роговичного эпителия. С помощью микрохирургического алмазного дозированного лезвия выделяли участок лимба шириной 4 мм, глубиной 0,2 мм и удаляли по окружности на 360°. **Результаты.** На 30-й день развились помутнения в оптической зоне, неоваскуляризация с нарастанием конъюнктивального паннуса до оптической зоны роговицы. Гистологическое исследование микропрепаратов обнаружило наличие тканевого отека, воспалительной инфильтрации и новообразованных сосудов. Местами имелось истончение эпителия до одного ряда уплощенных клеток, Боуменова мембрана деформирована и практически не определялась. Гистологическое исследование и импрессионная цитология подтвердили наличие бокаловидных клеток в эпителии роговицы. **Выводы.** Предлагаемая модификация модели лимбальной недостаточности лишена основных недостатков предшествующих моделей, таких как дороговизна и сложность исполнения, обеспечивает интраоперационный контроль заданной глубины резекции лимбальных тканей и исключает возможность перфорации глазного яблока. Модель является эффективной, универсальной, стандартизированной и доступной для широкого применения.

Ключевые слова: эксперимент, модель, лимбальная недостаточность, лимбальные эпителиальные стволовые клетки, бокаловидные клетки

Для цитирования: Безушко А.В., Дубовиков А.С., Куликов А.Н., Чурашов С.В., Черныш В.Ф., Суетов А.А., Гаврилюк И.О. Модификация механической модели лимбальной недостаточности. *Офтальмология*. 2018;15(1):51-57. DOI: 10.18008/1816-5095-2018-1-51-57

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует

Modification of Mechanical Limbal Stem Cell Deficiency Model

A.V. Bezushko*, A.S. Dubovikov, A.N. Kulikov, S.V. Churashov, V.F. Chernysh, A.A. Suetov, I.O. Gavrilyuk

Kirov Military Medical Academy
Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2018;15(1):51–57

Introduction. Ocular surface diseases related with limbal epithelial stem cells dysfunction were united in term "limbal stem cell deficiency" (LSCD). For experimental study of the regenerative processes and evaluation of the success of new LSCD treating methods LSCD model is required. Various LSCD models were proposed in the experiment to study: mechanical, thermal, chemical, medicamentous. The main lack of these models were the relative high cost and complexity of execution. The mechanical model allows for the guaranteed removal of tissues containing LSCs, and therefore seems to be the most acceptable. We offered a modification of the mechanical LSCD model in rabbits. Purpose to create a standardized modification of the mechanical limbal stem cell deficiency model in the experiment. **Material and methods.** The experimental study was performed in 10 mature Chinchilla rabbits (20 eyes) with an average weight 2.5–3.5 kg. With the local anesthesia, after a 40-second application of the filter paper impregnated with 20% ethanol, the corneal epithelium was removed. With microsurgical diamond blade we metered limb portion of 4 mm width, 0.2 mm deep, and it was removed along the 360° rim. **Results.** On the 30th day we discovered corneal opacity and neovascularization with conjunctival pannus extending to the optical zone of the cornea. Histological examination revealed tissue edema, inflammatory infiltration, and newly formed vessels. In some places, thinning of epithelium to one row of flattened cells was observed. The Bowman membrane was deformed and practically not detected. Histological examination and impression cytology confirmed the presence of goblet cells in the corneal epithelium. **Conclusions.** Our modification of the mechanical limbal stem cell deficiency model is devoid of the main lacks of previous models, such as the high cost and complexity of execution, provides intraoperative limbal tissue resection depth control and excludes the possibility of the eye perforation. It is effective, universal, standardized and available for widespread use.

Keywords: limbal stem cell deficiency, experiment, model, limbal epithelial stem cells, goblet cells

For citation: Bezushko A.V., Dubovikov A.S., Kulikov A.N., Churashov S.V., Chernysh V.F., Suetov A.A., Gavrilyuk I.O. Modification of Mechanical Limbal Stem Cell Deficiency Model. *Ophthalmology in Russia*. 2018;15(1):51–57. DOI: 10.18008/1816-5095-2018-1-51-57

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

АКТУАЛЬНОСТЬ

В последние годы в офтальмологической литературе все большее внимание уделяется тяжелым заболеваниям глазной поверхности, связанным с поражением лимбальной зоны и развитием дисфункции лимбальных эпителиальных стволовых клеток (ЛЭСК). Такие состояния объединяются общим термином «лимбальная недостаточность» (ЛН).

Лимбальная недостаточность может возникать под воздействием внешних факторов, повреждающих непосредственно лимбальные эпителиальные стволовые клетки (химический или термический ожог, открытая травма глаза, ультрафиолетовое излучение, ношение контактных линз, применение цитостатиков и др.). Также лимбальная недостаточность может быть результатом воздействия внутренних факторов, первично действующих на микроокружение клеток (наследственные, аутоиммунные или системные заболевания, такие, как синдром Стивенса—Джонсона, Лаела и др.). Это приводит к гибели или снижению численности и функциональной активности лимбальных эпителиальных стволовых клеток [1, 2].

ЛЭСК локализируются в переходной зоне между конъюнктивальным и роговичным эпителием в складках палисада Vogt роговичной части лимба и представлены здесь базальным слоем эпителия. Морфологическое микроокружение ЛЭСК (клетки и экстрацеллюлярный ма-

трикс) получили название ниши. У кроликов в нише эти клетки располагаются на глубине 150–200 мкм [3]. Ниша защищена от ультрафиолетового излучения благодаря меланоцитам, находящимся в базальных слоях лимбального эпителия, а также векам, прикрывающим верхний и нижний участок лимба [4]. Волнообразная форма базальной мембраны повышает устойчивость ниши к механическим повреждениям [5]. Кровеносные сосуды лимба снабжают нишу кислородом, а клетки мезенхимального происхождения — цитокинами, факторами роста и другими нутриентами [6, 7]. Ниша оказывает регулирующее влияние на жизненный цикл ЛЭСК, поддерживая необходимое количество [6, 8]. В здоровом глазу постоянно происходит процесс обновления клеток эпителия роговицы. За счет асимметричного деления ЛЭСК с образованием ТА-клеток (transient amplifying cells) обновляется слой базальных клеток непосредственно роговицы, которые постепенно смещаются по базальной мембране центрипетально и пролиферируют, проходя постмитотическую и терминальную дифференцировку, с образованием супрабазальных поверхностных клеток роговичного эпителия, постепенно занимающих место элиминированных [9]. При ЛН происходит сдвиг существующего в норме баланса между гибелью и образованием новых клеток. В результате гибели или повреждения популяции ЛЭСК нарушается естественный барьер, препятствующий распространению на роговицу эпителия конъюнктивы [10]. Далее развиваются клинические проявления ЛН: нарас-

А.В. Безушко, А.С. Дубовиков, А.Н. Куликов, С.В. Чурашов, В.Ф. Черныш, А.А. Суетов, И.О. Гаврилюк

тание на роговицу конъюнктивального эпителия с врастанием поверхностных сосудов (конъюнкционализация), хроническое воспаление, деструкция базальной мембраны, рецидивирующие эрозии и язвы, рубцевание стромы роговицы с формированием в исходе фиброваскулярного паннуса, что приводит к прогрессирующему снижению остроты зрения [11, 12].

Для изучения регенеративных процессов и оценки эффективности новых методов лечения ЛН в эксперименте предлагались различные модели формирования ЛН: тотальная хирургическая резекция лимбальной зоны [13], кольцевидное воздействие электрокоагулятором [14], аппликация фильтровальной бумаги, пропитанной 4%-ным раствором NaOH в течение 25 секунд [15] и аппликация митомицина С на область лимба (после тотального удаления роговичного эпителия) [16]. Наиболее доступной, не требующей специальной аппаратуры и химических реактивов, представляется механическая модель. В то же время описанные методики не предусматривают возможность точного интраоперационного контроля глубины резекции с целью предупреждения перфорации глазного яблока. Известные в настоящее время механические модели ЛН не стандартизированы и не могут быть использованы в экспериментальных исследованиях.

Цель работы: создать стандартизированную модификацию механической модели лимбальной недостаточности в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на 10 половозрелых кроликах (20 глаз) породы шиншилла, весом 2,5–3,5 кг.

Всем животным была выполнена седация с помощью Ксилавета 2% (Labiana life science, Испания) 0,5 мл подкожно и местная анестезия поверхности глаза путем аппликации Алкаина 0,5% (Alcon-Couvreur, Бельгия).

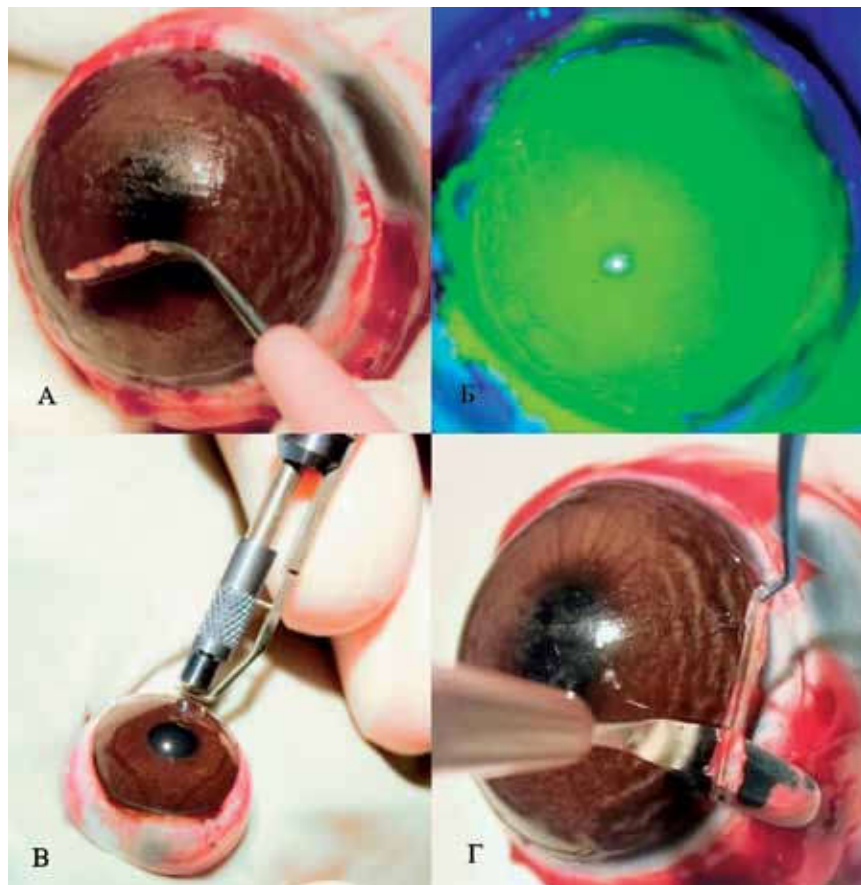


Рис. 1. Создание модели ЛН. Механическое удаление роговичного эпителия (А), дезэпителизированная поверхность роговицы, окрашенная с помощью 1%-ным раствором флуоресцеина натрия (Б). Нанесение насечки с дозированной микроподачей (В). Удаление ленты лимба с роговичной и конъюнктивальной тканью (Г)

Fig. 1. Creation of limbal insufficiency model. Total mechanical removal of the corneal epithelium [A], staining of the deepithelialised corneal surface with a 1% sodium fluorescein solution. [B]. A circular incision using microsurgeal diamond blade with microadvance [C], corneoconjunctival flap removal [D]

Тотальное механическое удаление роговичного эпителия выполняли ножом-расплаивателем после 40-секундной аппликации на поверхность роговицы фильтровальной бумаги, пропитанной 20%-ным этанолом (рис. 1А) [17]. Контроль полноты удаления роговичного эпителия проводили с помощью окрашивания роговичной поверхности 1%-ным раствором флуоресцеина натрия (рис. 1Б). Микрохирургическим алмазным лезвием с дозированной микроподачей центральное на 2 мм от линии лимба выполняли круговой надрез роговицы на глубину 0,2 мм. Затем проводили круговую перитомию конъюнктивы к периферии от лимба на 2,0 мм (рис. 1В). После этого в пределах этих двух круговых надрезов отсепаро-

вывали роговично-конъюнктивальный лоскут в виде ленты толщиной около 0,2 мм и шириной 4,0 мм (рис. 1Г). Такой охват роговичной и конъюнктивальной части лимба исключал возможность неполного удаления стволовых клеток роговичного эпителия в ростковой зоне.

В послеоперационном периоде консервативная терапия включала инстилляцию комбинированного препарата Тобрадекс (Alcon-Couvreur, Бельгия) и Корнерегеля (Dr. Gerhard Mann, Германия) 4 раза в день в течение двух недель.

Изменения в роговице и эпителизацию оценивали с помощью биомикроскопии на 3, 7, 14, 30-й день после операции. На 30-й день проводили импрессионную цитологию и гистологическое исследование.

Степень васкуляризации роговицы оценивали по 4-балльной шкале (табл. 1) [18]. Оценку интенсивности помутнения стромы роговицы выполняли по 10-балльной шкале [19].

Таблица 1. Степень неоваскуляризации [Inatomi T., 2006]

Table 1. Degrees of neovascularization [Inatomi T., 2006]

Выраженность клинических проявлений Severity of clinical manifestations	Баллы Points
Отсутствие неоваскуляризации Neovascularization is absent	0
Периферическая васкуляризация (в области лимба) peripheral neovascularization (in limbal area)	1
Перилимбальная васкуляризация Perilimbal neovascularization	2
Массивная васкуляризация лимба с начальной васкуляризацией всей поверхности роговицы Massive vascularization of the limbus with initial vascularization of the entire corneal surface	3
Массивная васкуляризация всей поверхности роговицы Massive vascularization of the entire corneal surface	4

Биомикроскопию выполняли на щелевой лампе Carl Zeiss (Германия) при увеличении $\times 10$ и $\times 16$ с окрашиванием глазной поверхности 1%-ным раствором флуоресцеина натрия для оценки площади деэпителизации роговицы.

Для количественной оценки площади деэпителизации роговицы в процентах использовали проекционную сетку с учетом индивидуальной кривизны поверхности роговицы каждого глаза (одно деление приравнивалось к 2% площади поверхности роговицы).

Импрессионную цитологию выполняли с целью определения фенотипа эпителия роговицы. Забор клеточного материала проводили путем аппликации ацетат-целлюлозного диска (Mce Membrane 0,45 μm) на четырех квадрантах, окрашивали гематоксилином и альциановым синим. Бокаловидные клетки определяли по характерной голубой окраске цитоплазмы клеток и фиолетовому ядру, смещенному к периферии. Наличие или отсутствие бокаловидных клеток в микропрепарате указывало на конъюнктивальный или роговичный фенотип эпителия.

Гистологическое исследование выполняли с окрашиванием гематоксилин-эозином для оценки морфологических изменений в тканях. Кроме того, проводили окрашивание альциановым синим и гематоксилином для идентификации бокаловидных клеток. Световую микроскопию осуществляли с помощью лабораторного микроскопа Leica MT 2500 (Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех животных на 3-й день сохранялся обширный дефект эпителия роговицы — в среднем 95,3%, строма была слегка отечная, но прозрачная (0 баллов), неоваскуляризация отсутствовала (0 баллов) (рис. 2).

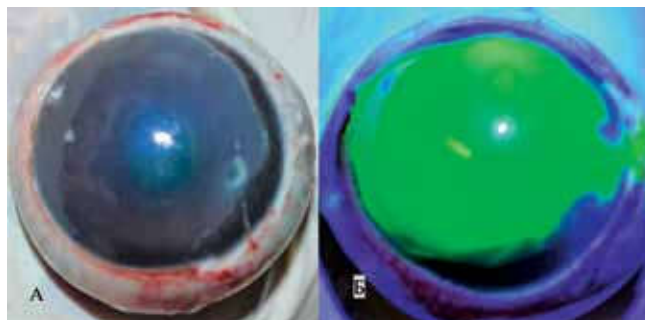


Рис. 2. 3-й день: строма отечная, шероховатая, прозрачна (0 баллов), отсутствие неоваскуляризации (0 баллов) (А), сохранялся обширный дефект эпителия (в среднем 95,3%) (Б)

Fig. 2. Day 3: stroma is edematous, rough, transparent (0 points), absence of neovascularization (0 points) (A), an extensive epithelial defect persisted (average, 95.3%) (B)

На 7-й день произошло сокращение зоны деэпителизации до 67,8% (рис. 3), отмечено начало врастания в роговицу сосудов (1,3 балла). Появилось помутнение стромы роговицы (2,3 балла).

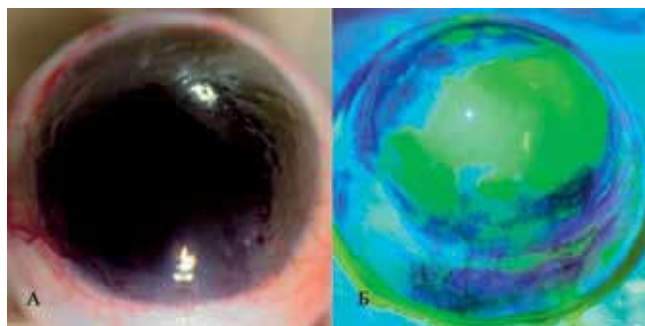


Рис. 3. 7-й день: начало врастания в роговицу сосудов (1,3 балла) (А), помутнение стромы роговицы (2,3 балла), сокращение зоны деэпителизации до 67,8% (Б)

Fig. 3. Day 7: start of the vessels ingrowth into the cornea (1.3 points) (A), opacity of the corneal stroma (2.3 points), reduction of the deepithelialization zone to 67.8% (B)

На 14-й день произошло сокращение зоны деэпителизации роговицы (до 35,7%), помутнение стромы стало более интенсивным (6,1 балла), неоваскуляризация распространилась до параоптической зоны — 3,1 балла (рис. 4).

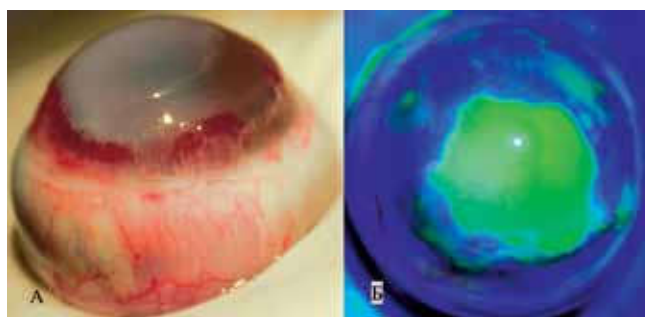


Рис. 4. 14-й день: более интенсивное помутнение роговицы (6,1 балла) и неоваскуляризация (3,1 балла) (А), сокращение зоны деэпителизации до 35,7% (Б).

Fig. 4. Day 14: increased corneal opacity (6.1 points) and neovascularization (3.1 points) (A), reduction of the deepithelialization zone to 35.7% (B).

На 30-й день площадь деэпителизации роговицы сократилась до 17,8%; появилось помутнение стромы в оптической зоне (до 8,1 балла); увеличилась неоваскуляризация стромы (3,7 балла) с нарастанием конъюнктивного паннуса, достигающего до оптической зоны роговицы (рис. 5).

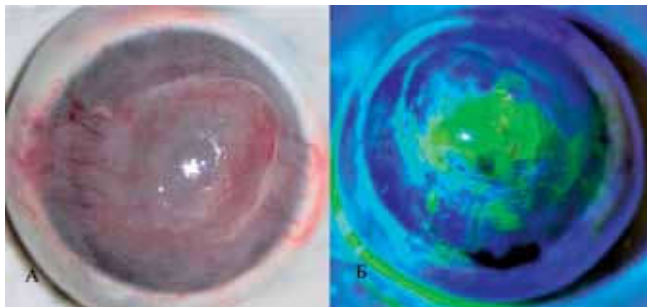


Рис. 5. 30-й день: помутнение стромы в оптической зоне (8,1 балла), грубая неоваскуляризация с нарастанием конъюнктивного паннуса (3,7 балла), достигающего до центральных отделов оптической зоны роговицы (А), сохраняются участки деэпителизации роговицы до 17,8% (Б)

Fig. 5. Day 30: stromal opacification in the optical zone (8.1 points), rough neovascularization with the growth of conjunctival pannus (3.7 points) reaching the central parts of the optical zone (A), the corneal deepithelialization area decreased to 17.8% (B)

На 30-й день при гистологическом исследовании микропрепаратов, окрашенных гематоксилин-эозином и альциановым синим, была обнаружена нарушенная гистоархитектоника роговицы за счет тканевого отека, воспалительной инфильтрации и новообразованных сосудов.

Организация эпителия роговицы была нарушена, местами было заметно истончение до одного ряда клеток, уплощенных по форме. Боуменова мембрана была сильно деформирована и практически не определялась. Воспалительная инфильтрация была выраженная, но большое количество фибробластов и прорастание сосудов свидетельствовало об активных пролиферативных процессах в поврежденной роговице.

В воспалительном инфильтрате, помимо нейтрофилов и макрофагов, были выявлены также лимфоциты и эозинофилы. В строме были обнаружены экстравазальные эритроциты (кровоизлияние из новообразованных сосудов) (рис. 6).

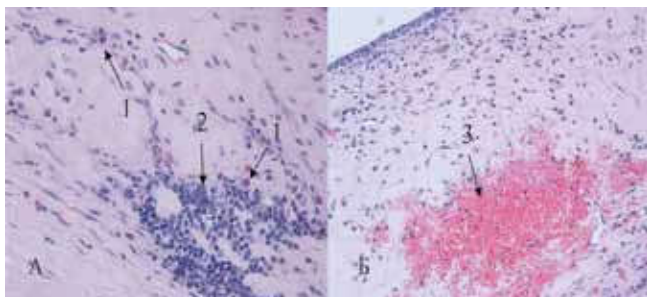


Рис. 6. А: $\times 800$; Б: $\times 400$, Окраска гематоксилин и эозин. В воспалительном инфильтрате выявлены лимфоциты (2) и эозинофилы (1). В строме обнаружены экстравазальные эритроциты (3)

Fig. 6. A: $\times 800$; Б: $\times 400$, Hematoxylin-eosin staining. In inflammatory infiltrate were revealed lymphocytes (2), and eosinophils (1). In the stroma, extravascular erythrocytes have been found (3)

При окраске альтиановым синим были найдены единичные бокаловидные клетки, расположенные на периферии, на расстоянии до 3 мм от лимба (рис. 7).

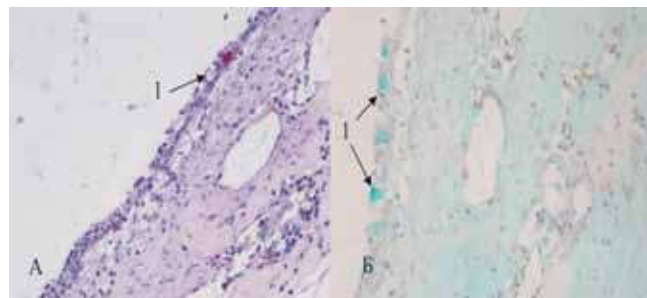


Рис. 7. $\times 400$, Окраска гематоксилин и эозин (А), Окраска гематоксилин и альтиановый синий (Б). В эпителии единичные бокаловидные клетки (1), расположенные на периферии на расстоянии до 3 мм от лимба

Fig. 7. $\times 400$, Hematoxylin-eosin staining (A), Hematoxylin and alcian blue staining (B). In the epithelium, single goblet cells (1) were located on the periphery in 3 mm from the limbus

Методом импрессионной цитологии в микропрепаратах был выявлен плоский неороговевающий эпителий роговицы с большим количеством бокаловидных клеток (рис. 8).

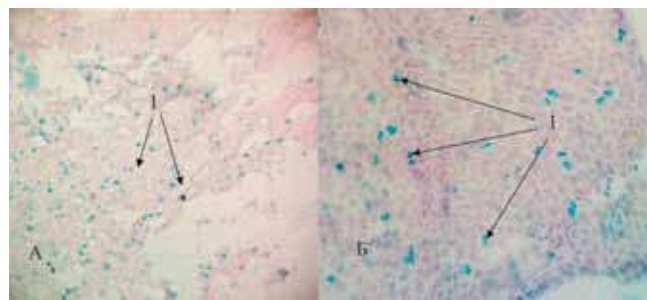


Рис. 8. А: $\times 200$; Б: $\times 400$, Окраска гематоксилин и альтиановый синий. Плоский неороговевающий эпителий роговицы с бокаловидными клетками (1)

Fig. 8. A: $\times 200$; Б: $\times 400$, Hematoxylin and alcian blue staining. Simple non-keratinized squamous epithelium of the cornea with a large number of goblet cells (1)

Таким образом, разработана стандартизированная модификация механической модели лимбальной недостаточности, доступная для широкого применения в экспериментальных исследованиях, позволяющая осуществлять интраоперационный контроль заданной глубины резекции лимбальных тканей и исключающая возможность перфорации глазного яблока. В результате полной механической элиминации зоны локализации лимбальных эпителиальных стволовых клеток предлагаемая модификация механической модели ЛН показала себя эффективной во всех наблюдениях. Надежная прогнозируемость результата моделирования лимбальной недостаточности значительно снижает возможность ошибки в оценке эффективности тех или иных методов лечения лимбальной недостаточности. Модель позволяет изучать и сравнивать эффективность различных методов лечения лимбальной недостаточности, таких как лимбальная трансплантация, трансплантация куль-

тивированных лимбальных эпителиальных стволовых клеток на различных носителях, а также трансплантация клеток иного происхождения (буккальных, мезенхимальных стволовых клеток и др.).

Выводы

Предложенная модификация механической модели лимбальной недостаточности обеспечивает интраоперационный контроль заданной глубины резекции лимбальных тканей и исключает возможность перфорации глазного яблока.

Модификация лишена основных недостатков предшествующих моделей, таких как дороговизна и сложность выполнения.

Разработанная модель является универсальной стандартизированной и доступной для широкого применения.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Безушко А.В. — концепция и дизайн исследования, выполнение хирургических манипуляций, сбор и обработка материала, написание текста, подготовка иллюстраций, обзор литературы;
Дубовиков А.С. — сбор и обработка материала, обзор литературы, выполнение хирургических манипуляций;
Куликов А.Н. — общая концепция и дизайн исследования, редактирование текста, формулировка выводов;
Чурашов С.В. — концепция и дизайн исследования, выполнение хирургических манипуляций, написание текста;
Черныш В.Ф. — концепция и дизайн исследования, выполнение хирургических манипуляций, написание текста;
Суетов А.А. — выполнение гистологического исследования и оценка результатов, написание текста;
Гаврилюк И.О. — обзор литературы, сбор и обработка материала, написание текста.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз. Состояние проблемы и новые подходы. СПб.: Бастин, 2008;11–17. [Chernish V.F., Boiko E.V. Eye burns. State of the problem and new approaches. SPb.: Bastion, 2008;11–17. (in Russ.)]
2. Haagdorens M., Van Acker S.J., Van Gerwen V., et al. Limbal stem cell deficiency: current treatment options and emerging therapies. *Stem. Cells International*. 2016;2016:22. DOI: 10.1155/2016/9798374
3. Ouyang H., Xue Y., Lin Y., et al. WNT7A and PAX6 define corneal epithelium homeostasis and pathogenesis. *Nature*. 2014;511(7509):358–361. DOI: 10.1038/nature13465
4. Chee K.Y.H., Kicic A., Wiffen S.J. Limbal stem cells: the search for a marker. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2006;34(1):64–73. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2006.01147.x
5. Gipson I.K. The epithelial basement membrane zone of the limbus. *Eye*. 1989;3(2):132–140. DOI: 10.1167/iov.13-12547
6. Shortt A.J., Secker G.A., et al. Characterization of the limbal epithelial stem cell niche: Novel imaging techniques permit in vivo observation and targeted biopsy of limbal epithelial stem cells. *Stem Cells*. 2007;25(6):1402–1409. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0580
7. Kruse F.E., Tseng S.C. Growth factors modulate clonal growth and differentiation of cultured rabbit limbal and corneal epithelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1993;34(6):1963–1976.
8. Schofield R. The stem cell system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1983;37(8):375–380.
9. Thoft R.A., Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1983;24(10):1442–1443.
10. Holland E.J., Mannis M.J., Lee W. B. Ocular Surface Disease: Medical and Surgical Management. Springer. 2013;29–31.
11. Du Y.E., Carlson E.C., Funderburgh, M.L., et al. Stem cell therapy restores transparency to defective murine corneas. *Stem Cells*. 2009;27(7):1635–1642. DOI: 10.1002/stem.91
12. Бездетко П.А., Ильина Е.Н. и др. Особенности формирования роговичного эпителия после пересадки аутоотрансплантата при лимбальной недостаточности в эксперименте. *Офтальмологический журнал*. 2010;1:64–68. [Bezdetko P.A., Ilyina Y. N., et al. Regeneration of corneal epithelium after autograft transplantation at the stem cell deficiency in experiment. *Journal of Ophthalmology (Ukraine)=Oftalmologichnyi zhurnal*. 2010;1:64–68. (in Russ.)]
13. Макаров П.В. К хирургической тактике лечения тяжелой и особо тяжелой ожоговой травмы глаз (сообщение 2). *Вестник офтальмологии*. 2002;118(4):8–10. [Makarov P.V. To surgical treatment of severe and extremely severe eye burn injuries (report 2). *Annals of Ophthalmology=Vestnik oftal'mologii*. 2002;118(4):8–10. (in Russ.)]
14. Talbot M., Carrier P., Giasson C.J., et al. Autologous transplantation of rabbit limbal epithelia cultured on fibrin gels for ocular surface reconstruction. *Molecular Vision*. 2006;12:65–75.
15. Ye J., Yao K., Kim J.C. Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: Engraftment and involvement in wound healing. *Eye*. 2006;20(4):482–490. DOI: 10.1038/sj.eye.6701913
16. Милудин Е.С. Экспериментальная модель недостаточности региональных стволовых клеток роговичного эпителия. *Вестник Самарского государственного университета — Естественно-научная серия*. 2006;9(49):219–226. [Miludin E.S. The experimental model of corneal epithelium regional stem cells deficiency. *Vestnik of Samara State University=Vestnik Samarskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2006;9(49):219–226. (in Russ.)]
17. Dua H., Lagnado R., Raj D., et al. Alcohol Delamination of the Corneal Epithelium: An Alternative in the Management of Recurrent Corneal Erosions. *Ophthalmology*. 2006;113(3):404–411. DOI: 10.1016/j.ophtha.2005.10.049
18. Inatomi T., Nakamura T., Koizumi N., et al. Midterm results on ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *American Journal of Ophthalmology*. 2006;141(2):267–275. DOI: 10.1016/j.ajo.2005.09.003
19. Войно-Ясенецкий В.В. Разрастание и изменчивость тканей глаза при его заболеваниях и травмах. Киев: Вища школа; 1979;224. [Voyno-Yasenetsky V.V. Expansion and the variability of the eye tissue during its diseases and injuries. Kiev: Vyssha Shkola, 1979;224. (in Russ.)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 * Безушко Анна Васильевна
 врач-офтальмолог
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Дубовиков Анатолий Сергеевич
 клинический-ординатор
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Куликов Алексей Николаевич
 доктор медицинских наук, доцент, начальник кафедры офтальмологии
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Чурашов Сергей Викторович
 доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры офтальмологии
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Черныш Валерий Федорович
 кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры офтальмологии
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Суетов Алексей Александрович
 кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»
 Гаврилук Илья Олегович
 врач-офтальмолог
 ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

ABOUT THE AUTHORS

S.M. Kirov Military Medical Academy
 * Bezushko Anna V.
 ophthalmologist
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S.M. Kirov Military Medical Academy
 Dubovikov Anatoli .
 clinical resident
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S.M. Kirov Military Medical Academy
 Kulikov Alexei N.
 MD, docent, head of Ophthalmology Department
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S.M. Kirov Military Medical Academy
 Churashov Sergei V.
 MD, docent, professor of Ophthalmology Department
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S.M. Kirov Military Medical Academy
 Chernysh Valeri F.
 PhD, docent, docent of Ophthalmology Department
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S. M. Kirov Military Medical Academy
 Suetov Alexei A.
 PhD, ophthalmologist
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia

S. M. Kirov Military Medical Academy
 Gavriluk Ilia O.
 ophthalmologist
 Akademika Lebedeva str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia