

УДК 617.713–002.9–092.9–089.815:618.446:07–097

**Середа Е. В., Вит В. В., Дрожжина Г. И., Гайдамака Т. Б.**

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова  
Национальной академии медицинских наук Украины», г. Одесса, Украина

## **Особенности экспрессии виментина структурными элементами роговицы кроликов при применении амниотической мембраны с различными методами ее фиксации на модели бактериального кератита**

**Резюме.** Целью исследования является изучение экспрессии виментина для выяснения роли стволовых клеток области лимба в процессах регенерации роговой оболочки кролика при применении криоконсервированной амниотической мембраны. В статье представлены результаты проведенного экспериментального исследования, заключающегося в трансплантации мембраны с использованием двух хирургических техник на модели бактериального кератита. Динамику процессов регенерации роговицы определяли уровнем экспрессии виментина. Установлено, что в группе с onlay-техникой экспрессия виментина определялась уже на ранних этапах процессов регенерации как в регенерирующих эпителиоцитах, так и в стромальных элементах. В группе с inlay-техникой динамика экспрессии виментина аналогична, но отмечалась задержка процессов, особенно при наличии реакции структур роговой оболочки на шовный материал.

Амниотическая мембрана может играть важную роль в лечении бактериального кератита благодаря активации стволовых клеток лимбальной зоны и ускорению процессов эпителизации роговой оболочки.

**Ключевые слова:** роговица, бактериальный кератит, виментин, амниотическая мембрана, эксперимент.

Виментин является белком промежуточных филаментов тканей мезодермального происхождения, а также маркером стволовых клеток лимба. На протяжении последних лет было исследовано много молекулярных маркеров для идентификации стволовых клеток лимба (ABCG2, p63, кератин 5/14, кератин 19,  $\alpha$ -энолаза, виментин и интегрин- $\alpha$ 9) [4, 5, 6, 8]. При этом установлено, что наиболее точно идентифицирует стволовые клетки именно виментин. По этой причине мы использовали экспрессию виментина для выяснения роли стволовых клеток области лимба в процессах регенерации роговой оболочки кролика при применении амниотической мембраны. Амниотическая мембрана человека обладает антибактериальными [10, 13], антиангиогенными, противовоспалительными [9] и антифибробластными свойствами [14]. Однако механизмы противовоспалительного, репаративного действия мембраны изучены недостаточно. В эксперименте было доказано, что базальная мембрана амниона является субстратом, облегчающим миграцию эпителиальных клеток и усиливающим

---

их адгезию [11]. Также она стимулирует дифференцировку клеток, что способствует ускорению процесса эпителизации. Особо следует отметить, что морфология выросших на амнионе эпителиальных клеток идентична нормальным клеткам роговицы или конъюнктивы (в зависимости от зоны трансплантации) [7].

Известно, что физиологическая регенерация роговицы происходит благодаря стволовым клеткам лимба, мигрирующим к центральным участкам роговичного эпителия [12]. Именно поэтому изучение особенностей влияния амниотической мембраны на стволовые клетки лимба роговицы представляет научный и практический интерес.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Целью работы является изучение экспрессии виментина для выяснения роли стволовых клеток области лимба в процессах регенерации роговой оболочки кролика при применении амниотической мембраны с различными способами ее фиксации к поверхности глаза при моделированном бактериальном кератите.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Экспериментальное исследование проведено на 30 глазах 30 кроликов породы шиншилла весом 2,5–3,0 кг, которых содержали при комнатной температуре на обычном лабораторном рационе. Оперативные вмешательства выполняли на базе вивария ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова Национальной академии медицинских наук Украины» в условиях асептики и антисептики. Эксперимент проводили с выполнением этических норм, предусмотренных международными принципами Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и в других научных целях» (Страсбург, 1986 г.), и норм биомедицинской этики, одобренных Первым национальным конгрессом Украины по биоэтике (2001 г.), а также Закона Украины № 3447-IV «О защите животных от жестокого обращения» (2006 г.).

Моделирование бактериального кератита средней степени тяжести проводили по предложенному нами способу [3], который заключался в послойной трепанации роговой оболочки кролика до 2/3 толщины стромы с инфицированием роговицы путем двукратной инстилляцией в конъюнктивальную полость 1 мл бактериальной суспензии патогенного штамма *Staphylococcus aureus* ( $10^9$  клеток/мл), полученного от больного, и последующей субконъюнктивальной инъекцией 0,1 мл дипроспана [5]. Через 2 недели после моделирования кератита у 30 животных (30 глаз) проводили трансплантацию амниотической мембраны. Для размораживания мембраны криопробирку вынимали из сосуда Дюара с жидким азотом и погружали в водяную баню, нагретую до температуры от +38 до +40 °С.

Использовали технику inlay (1 слой) с фиксацией амниона восемью узловатыми швами нейлон 10/00 к роговице и технику onlay (1 слой) с фиксацией мембраны восемью узловатыми швами шелк 8/00 к эписклере. Веки животных сшивали двумя П-образными швами, оставляя в медиальном углу щель для осмотра. Срок наблюдения составил 1 месяц. Животных выводили из экспериментального исследова-

дования на 7, 14 и 30 сутки (по 10 животных на каждый срок) путем введения в ушную вену 1,0 см<sup>3</sup> воздуха с последующим забором роговой оболочки для морфологического исследования.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Клиническое исследование

В течение месяца после трансплантации амниотической мембраны проводили ежедневные осмотры для выяснения состоятельности швов на веках кроликов, характера конъюнктивального отделяемого, наличия амниотической мембраны на поверхности роговицы, воспалительных изменений в роговой оболочке, а также процессов эпителизации при помощи флуоресцеинового теста.

### Морфологическое исследование

Энуклеированные глазные яблоки фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали с использованием микроскопа Jenamed-2.

### Иммуногистохимическое исследование

С целью выявления экспрессии виментина мы использовали непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии моноклональных антител (МКАТ) к виментину.

Окрашивание производили таким образом: после депарафинизации срезов их помещали на стекло, осуществляли блокировку эндогенной пероксидазы 3%-м раствором перекиси водорода. После промывания срезов осуществляли блокировку неспецифических протеиновых соединений двумя каплями 1%-го BSA (бычий сывороточный альбумин). После промывания срезов в PBS-буфере (фосфатный буфер) наносили первичные антитела к антигену виментин (ДАКО, Дания) на один час. После повторного промывания срезов в PBS наносили вторичные антитела, после чего наносили две капли комплекса стрептавидин-пероксидазы и проводили инкубацию в течение 30 минут. После промывания срезов на них наносили аминок-этилкорбазол хромоген-раствора на 5–20 минут до появления коричневой окраски.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Особенности экспрессии виментина при полном покрытии роговицы амниотической мембраной с захватом лимбальной зоны

При отсутствии использования шовного материала для фиксации амниотической мембраны к роговице (onlay-техника) экспрессия виментина определяется уже на ранних этапах развития явлений регенерации при сохраненной амниотической мембране и отсутствии покрытия передней поверхности роговицы регенерирующей эпителиальной тканью (рисунок 1). При этом экспрессия виментина выявлялась преимущественно клеточными элементами, покрывающими с двух сторон мембрану, представляющими собой как воспалительные клетки, так и частично сохранившиеся эпителиальные клетки переднего эпителия роговицы и мембраны.

---

При этом на начальных этапах эпителизации роговицы, когда переднюю поверхность роговицы покрывает эпителий, состоящий из одного или двух слоев клеток, экспрессия виментина интенсивно выражена как в регенерирующих эпителиоцитах, так и в стромальных элементах, прилежащих к эпителиальному слою (рисунок 2). При этом в поверхностных слоях стромы роговицы реакция отсутствует, что соответствует наиболее выраженному отеку и деструкции коллагеновых стромальных пластин. Это свидетельствует о наличии выраженной реакции на повреждение в процессе регенерации роговицы стромальных кератоцитов, находящихся в состоянии структурной перестройки. Выраженная экспрессия виментина в строме также может быть связана с ее инфильтрацией клетками воспаления. Эти данные коррелируют с проведенными морфологическими исследованиями, а именно наличием на 7-е сутки фокального мукоидного отека коллагеновых стромальных пластин, неравномерной толщиной слоя переднего эпителия, состоящего из 2–3 слоев эпителиальных клеток [1].

На следующем этапе процессов регенерации, характеризующихся начальной эпителизацией поверхности роговицы и последующей дифференциацией клеток переднего эпителия роговицы, отмечается изменение степени экспрессии виментина как эпителиоцитами, так и клетками стромы.

Основная закономерность этого процесса сводится к тому, что по мере эпителизации и последующей дифференциации переднего эпителия количество положительно окрашивающихся клеток уменьшается.

При наличии полного покрытия передней поверхности роговицы эпителиальной тканью, но отсутствии ее полной дифференциации по слоям еще определяется большое количество клеток, экспрессирующих виментин, особенно в базальных слоях эпителия. Это свидетельствует об участии в регенерации на этом этапе большого количества стволовых клеток лимбальной области, мигрирующих на поврежденную поверхность. Необходимо отметить, что экспрессия виментина обнаруживается и в кератоцитах. При этом четко выявляется их равномерное распределение в строме, приближающееся к норме (рисунок 3). Исчезает пятнистое скопление экспрессирующих виментин клеток, что свидетельствует об отсутствии в строме клеток воспаления и нормализации структуры стромы.

При полном покрытии роговой оболочки эпителием и его дифференциации экспрессия виментина выявляется только в одном слое эпителиальных клеток базального слоя и в стромальных кератоцитах (рисунок 4). Причем по мере дифференциации эпителиоцитов по слоям количество экспрессирующих виментин клеток уменьшается. Микроскопически спустя месяц после проведения оперативного вмешательства отмечается полная дифференциация эпителиальных клеток по слоям, а также снижение или полное отсутствие отека стромы роговицы. Признаки воспалительной инфильтрации роговой оболочки иммунокомпетентными клетками не наблюдаются [1].

### **Особенности экспрессии виментина при покрытии роговой оболочки амниотической мембраной с фиксацией ее швами к поверхности роговицы**

При фиксации амниотической мембраны шовным материалом к роговице (inlay-техника) динамика экспрессии виментина эпителиальными клетками переднего эпи-

теля и стромальных кератоцитов соответствует вышеописанным, но отмечается задержка процессов, особенно при наличии реакции структур роговой оболочки на шовный материал.

Шовный материал в ряде случаев приводит к формированию воспалительного инфильтрата вокруг него, а в более позднем периоде процесса регенерации – к неоваскуляризации поверхностных слоев роговицы вблизи шва. При этом вокруг шовного материала и кровеносных сосудов определяются поля интенсивной экспрессии маркера, соответствующие скоплению воспалительных клеток и фибротизации пораженных участков со скоплением фибробластов различной степени дифференциации (рисунки 5, 6).

Гистологически на 30-е сутки после операции отмечается полная эпителизация раневой поверхности, но при этом дифференциация по слоям характерна только для центральных участков роговой оболочки. Вблизи шовного материала эпителиальный слой истончен, а эпителиоциты дегенеративно изменены. В этих местах сохраняется отек стромы роговой оболочки. В ряде случаев отмечаются явления начальной васкуляризации стромы роговой оболочки, особенно в поверхностных слоях и вблизи шовного материала [2].

Интенсивная реакция выявляется также в эндотелиальных клетках вновь образованных кровеносных сосудов. При этом поверхность полностью эпителизована, но степень дифференциации эпителия в различных местах отличается.

Согласно проведенным морфологическим исследованиям дегенеративные изменения стромы отмечались на всем протяжении проходящего сквозь строму шовного материала. При этом в области внутренних слоев стромы роговой оболочки вблизи шовного материала отмечалась реактивная пролиферация эндотелиальных клеток с образованием многослойной волокнистой ткани [2].

Необходимо отметить, что в местах наиболее выраженной экспрессии виментина в воспалительных и стромальных элементах роговицы отмечается наличие интенсивной реакции эпителиоцитов средних и поверхностных слоев переднего эпителия (рисунок 5).

Процессы распределения виментин-экспрессирующих клеток в роговой оболочке идентичны при различных способах фиксации амниотической оболочки, но при швной фиксации процесс регенерации и, естественно, распределение виментин-экспрессирующих клеток различны. При фиксации швами регенерация замедляется, что связано с развитием в части случаев воспалительной реакции вокруг шовного материала, а в последующем и неоваскуляризации стромы. Сопровождается этот процесс накоплением клеток, экспрессирующих виментин в воспалительном инфильтрате.

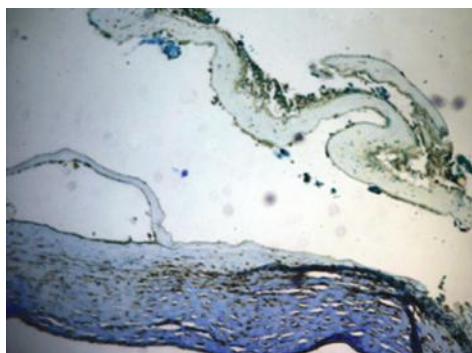
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет заключить, что в процессах регенерации роговой оболочки кроликов при применении амниотической оболочки с различной ее фиксацией на модели бактериального кератита принимают участие стволовые клетки лимба роговицы, о чем свидетельствует экспрессия ими виментина. При этом отмечается определенная динамика их участия в зависимости от стадии развития

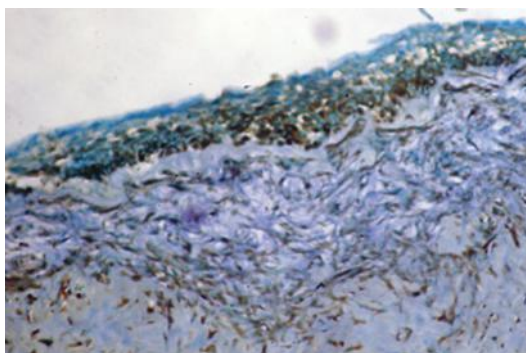
процесса регенерации переднего эпителия роговицы. Наибольшее количество стволовых клеток определяется в процессе наползания эпителия на раневую поверхность и пролиферации клеток, приводящей к формированию многослойного, но не дифференцированного по слоям эпителия. По мере дифференциации эпителия по слоям их количество уменьшается и при строении эпителия, приближающегося к норме, стволовые клетки определяются только в базальном слое.

В динамике процесса репарации экспрессия виментина изменяется и в клеточных элементах стромы роговой оболочки. Первоначально наиболее выражена экспрессия стромальных элементов в поверхностных слоях стромы при отсутствии эпителия или начальных этапах его наползания на строму. Это связано частично с наличием воспалительных элементов в этой области, а также существенной перестройкой кератоцитов. По мере покрытия стромы эпителием и его дифференциации количество виментин-экспрессирующих клеток уменьшается, и при дифференциации переднего эпителия экспрессия виментина выявляется только в равномерно распределенных в строме кератоцитах.

Таким образом, амниотическая мембрана может играть важную роль в лечении бактериального кератита благодаря активации стволовых клеток лимбальной зоны и ускорению процессов эпителизации роговой оболочки.

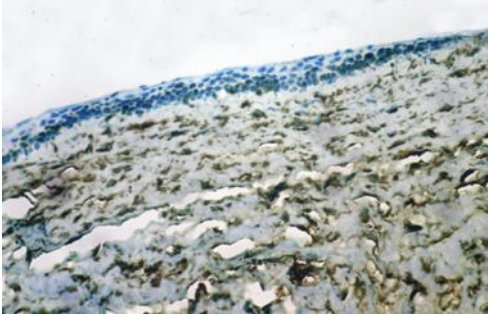


**Рисунок 1**  
**Кролик № 3. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки и амниотической мембраны, 7-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной**  
Примечание. Отмечаются отсутствие покрытия передней поверхности роговицы эпителием и сохраненная амниотическая оболочка (стрелка). Экспрессия виментина определяется клеточными элементами, покрывающими мембрану, а также клетками стромы роговой оболочки, особенно проявляется вблизи наиболее выраженной деструкции передних слоев стромы. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 70$ ).



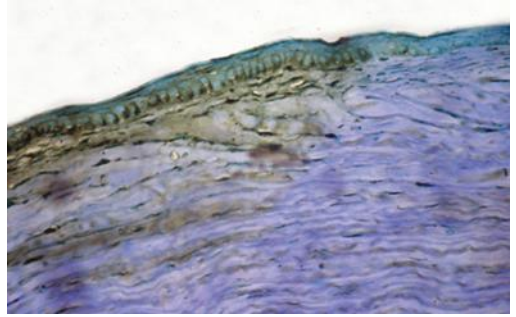
**Рисунок 2**  
**Кролик № 7. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки, 14-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной**  
Примечание. Выраженная экспрессия виментина регенерирующими эпителиоцитами и клеточными элементами стромы роговицы, прилежащими к эпителиальному слою. Отек и дезорганизация поверхностных слоев стромы, сопровождающиеся уменьшением количества кератоцитов, экспрессирующих виментин. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 180$ ).





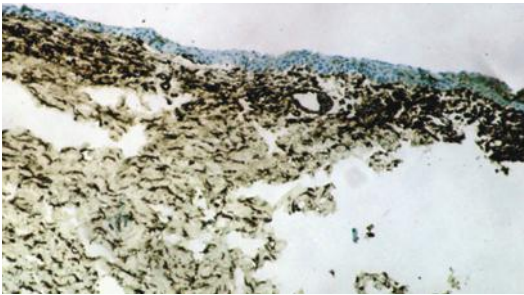
**Рисунок 3**  
Кролик № 9. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки, 14-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной

Примечание. Выраженная экспрессия виментина эпителиоцитами базальных и средних слоев эпителия при полном покрытии стромы и неравномерной дифференциации эпителия по слоям. Экспрессия кератоцитами, неравномерно распределенными во всех слоях стромы. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 120$ ).



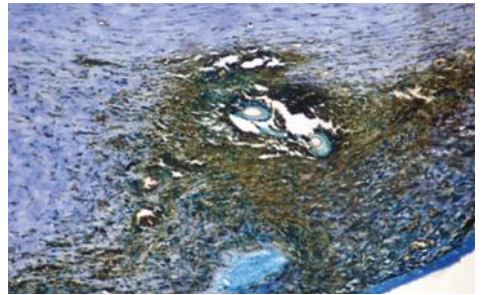
**Рисунок 4**  
Кролик № 12. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки, 30-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной

Примечание. Полное покрытие стромы роговицы дифференцированным эпителием. Отмечается существенное снижение количества эпителиальных клеток, экспрессирующих виментин. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 120$ ).



**Рисунок 5**  
Кролик № 4. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки, 30-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной, фиксированной швами к роговице

Примечание. Передняя поверхность роговицы покрыта дифференцированным эпителием. Выраженная экспрессия виментина определяется в воспалительном инфильтрате и эндотелиальных клетках вновь образованных сосудов, распространяющихся в поверхностных слоях стромы. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 120$ ).



**Рисунок 6**  
Кролик № 5. Экспрессия виментина структурными элементами роговой оболочки, 30-е сутки после покрытия роговицы амниотической мембраной, фиксированной швами

Примечание. Выраженная воспалительная инфильтрация вокруг шовного материала. Экспрессия выявляется как в воспалительных клетках, так и в фибробластоподобных клетках. Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии МКАТ к виментину ( $\times 120$ ).

---

**Середа К. В., Віт В. В., Дрожжина Г. І., Гайдамака Т. Б.**  
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова  
Національної академії медичних наук України», м. Одеса, Україна

## **Особливості експресії віментину структурними елементами рогівки кроликів під час застосування амніотичної мембрани з різними методами її фіксації на моделі бактеріального кератиту**

**Резюме.** Метою дослідження було вивчення експресії віментину для з'ясування ролі стовбурових клітин області лімба в процесах регенерації рогової оболонки кролика під час застосування кріоконсервованої амніотичної мембрани. У статті представлено результати проведеного експериментального дослідження, а саме трансплантації мембрани з використанням двох хірургічних технік на моделі бактеріального кератиту. Динаміку процесів регенерації рогівки визначали за рівнем експресії віментину. Установлено, що в групі з onlay-технікою експресію віментину визначали вже на ранніх етапах процесів регенерації як у регенерувальних епітеліоцитах, так і в стромальних елементах. У групі з inlay-технікою динаміка експресії віментину аналогічна, але зазначали затримку процесів, особливо за наявності реакції структур рогової оболонки на шовний матеріал.

Амніотична мембрана може відігравати важливу роль у лікуванні бактеріального кератиту завдяки активації стовбурових клітин лімбальної зони та прискоренню процесів епітелізації рогової оболонки.

**Ключові слова:** рогівка, бактеріальний кератит, віментин, амніотична мембрана, експеримент.

**Sereda K. V., Vit V. V., Drozhzhyna G. I., Gaidamaka T. B.**  
GI "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odesa, Ukraine

## **Features of vimentin expression with structural elements of rabbit cornea in the amniotic membrane transplantation with different methods of its fixation on the bacterial keratitis model**

### **SUMMARY**

**Introduction.** The study is important due to insufficient investigation of reparative mechanisms of cryopreserved human amniotic membrane.

**Purpose.** The purpose was to study vimentin expression in the rabbit cornea to determine the role of limbus area stem cells in corneal regeneration during cryopreserved amniotic membrane transplantation on bacterial keratitis model.

**Material and methods.** Cryopreserved amniotic membrane transplantation was performed in 30 Chinchilla rabbits on the developed model of bacterial keratitis. Two surgical



techniques were used: inlay technique with membrane fixation to cornea and onlay technique with its fixation to episclera by interrupted sutures. The follow up period was 1 month.

**Results of the study.** In the group with onlay technique vimentin expression was determined in the early stages of regeneration processes in the regenerating epithelial cells and stromal cells. By epithelialization and subsequent differentiation of the anterior epithelium the number of positive staining cells decreased. The group with inlay technique showed similar dynamics of vimentin expression, but it was noted the delay process, especially when the reaction patterns of the cornea on the suture occurred.

**Conclusions.** The amniotic membrane may play an important role in the treatment of bacterial keratitis due to the activation of stem cells of limbal zone and accelerate the processes of corneal epithelialization.

**Keywords:** cornea, bacterial keratitis, vimentin, amniotic membrane, experiment.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Дрожжина Г. И. Влияние биологического покрытия роговицы жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраной на особенности течения моделированного бактериального кератита / Г. И. Дрожжина, Е. В. Серeda, Т. Б. Гайдамака [и др.] // Офтальмологический журнал. – 2015. – № 1. – С. 103–109.
2. Серeda Е. В. Влияние жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека на особенности течения моделированного бактериального кератита при ее фиксации к роговице шовным материалом / Е. В. Серeda, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака [и др.] // Офтальмологический журнал. – 2015. – № 5. – С. 35–41.
3. Серeda Е. В. Экспериментальная модель бактериального кератита средней степени тяжести / Е. В. Серeda, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Офтальмология. Восточная Европа. – 2015. – № 2 (25). – С. 41–48.
4. Chen L. Vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGFR-3) mediates dendritic cell migration to lymph nodes and induction of immunity to corneal transplants / L. Chen, P. Hamrah, C. Cursiefen [et al.] // *Nature Medicine*. – 2004. – Vol. 10. – P. 813–815.
5. Chen Z. Characterization of putative stem cell phenotype in human limbal epithelia / Z. Chen, C. S. de Paiva, L. Luo [et al.] // *Stem Cells*. – 2004. – Vol. 22. – P. 355–366.
6. Daniels J. T. Corneal stem cells in review / J. T. Daniels, J. K. G. Dart, S. J. Tuft [et al.] // *Wound Repair and Regeneration*. – 2001. – Vol. 9. – P. 483–494.
7. Fukuda K. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva / K. Fukuda, T. Chikama, M. Nakamura [et al.] // *Cornea*. – 1999. – Vol. 18. – P. 73–79.
8. Grueterich M. Phenotypic study of a case with successful transplantation of ex vivo expanded human limbal epithelium for unilateral total limbal stem cell deficiency / M. Grueterich, E. M. Espana, A. Touhami [et al.] // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 109. – P. 1547–1552.
9. Hao Y. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane / Y. Hao, D. H. Ma, D. G. Hwang [et al.] // *Cornea*. – 2000. – Vol. 19. – P. 348–352.
10. Kjaergaard N. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro / N. Kjaergaard, M. Hein, L. Hyttel [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2001. – Vol. 94. – P. 224–229.
11. Lee S. H. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration / S. H. Lee, S. C. Tseng // *American Journal of Ophthalmology*. – 1997. – Vol. 123. – P. 303–312.
12. Sellar K. Development of the human sclera / K. Sellar, M. Spitznas // *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 1988. – Vol. 226. – P. 89–101.

- 
13. Talmi W. P. Antibacterial properties of human amniotic membranes / W. P. Talmi, L. Sigler, E. Inge [et al.] // *Placenta*. – 1991. – Vol. 12. – P. 285–288.
  14. Tseng S. C. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix / S. C. Tseng, D. Q. Li, X. Ma // *Journal of Cellular Physiology*. – 1999. – Vol. 179. – P. 325–335.

## REFERENCES

1. Drozhzhina G. I., Sereda K. V., Gaydamaka T. B., Vit V. V., Shabliy V. A., Lobyintseva G. S. Influence of biological coverage of the cornea with viable cryopreserved amniotic membrane on the course of the simulated bacterial keratitis. *Oftalmologicheskij zhurnal* [Journal of ophthalmology]. 2015; (1): 103–109 (in Russian).
2. Sereda K. V., Drozhzhina G. I., Gaydamaka T. B., Vit V. V., Shabliy V. A., Lobyintseva G. S. Influence of viable cryopreserved human amniotic membrane on the clinical features of the simulated bacterial keratitis in fixing it to the cornea by sutures. *Oftalmologicheskij zhurnal* [Journal of ophthalmology]. 2015; (5): 35–41 (in Russian).
3. Sereda K. V., Drozhzhina G. I., Gaydamaka T. B. The experimental model of moderate bacterial keratitis. *Oftalmologiya. Vostochnaya Evropa* [Ophthalmology. Eastern Europe]. 2015; (2): 41–48 (in Russian).
4. Chen L., Hamrah P., Cursiefen C., Zhang Q., Pytowski B., Streilein J. W., Dana M. R. Vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGFR-3) mediates dendritic cell migration to lymph nodes and induction of immunity to corneal transplants. *Nature Medicine*. 2004; (10): 813–815.
5. Chen Z., de Paiva C. S., Luo L., Kretzer F. L., Pflugfelder S. C., Li D. Q. Characterization of putative stem cell phenotype in human limbal epithelia. *Stem Cells*. 2004; (22): 355–366.
6. Daniels J. T., Dart J. K. G., Tuft S. J., Khaw P. T. Corneal stem cells in review. *Wound Repair and Regeneration*. 2001; (9): 483–494.
7. Fukuda K., Chikama T., Nakamura M., Nishida T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea*. 1999; (18): 73–79.
8. Grueterich M., Espana E. M., Touhami A., Ti S. E., Tseng S. C. Phenotypic study of a case with successful transplantation of ex vivo expanded human limbal epithelium for unilateral total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology*. 2002; (109): 1547–1552.
9. Hao Y., Ma D. H., Hwang D. G., Kim W. S., Zhang F. Identification of antiangiogenic and anti-inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea*. 2000; (19): 348–352.
10. Kjaergaard N., Hein M., Hyttel L., Helmig R. B., Schunheyder H. C., Ulbjerg N., Madsen H. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2001; (94): 224–229.
11. Lee S. H., Tseng S. C. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *American Journal of Ophthalmology*. 1997; (123): 303–312.
12. Sellar K., Spitznas M. Development of the human sclera. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 1988; (226): 89–101.
13. Talmi W. P., Sigler L., Inge E., Finkelstein Y., Zohar Y. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta*. 1991; (12): 285–288.
14. Tseng S. C., Li D. Q., Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *Journal of Cellular Physiology*. 1999; (179): 325–335.

Стаття надійшла в редакцію 22.09.2015 р.

Рецензія на статтю надійшла в редакцію 21.10.2015 р.