

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-4-115-120>



Биологический эффект комбинации лизата тромбоцитов и амниотической мембраны в культуре буккального эпителия

Е.В. Ченцова¹, Н.В. Боровкова², П.В. Макаров¹, Д.А. Боженко¹ ✉, И.Н. Пономарев², М.В. Сторожева², М.С. Макаров²

¹ ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

² ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, пл. Большая Сухаревская, д. 3, Москва, 129090, Россия

Цель работы — оценить биологический эффект комбинации лизата тромбоцитов и амниотической мембраны, консервированной разными способами, на примере культуры буккального эпителия человека. **Материал и методы.** Исследованы трансплантаты амниона человека, консервированные тремя способами: силиковысушивание, лиофилизация, криоконсервирование. В качестве источника тромбоцитов использовали кровь здоровых добровольцев, из которой выделяли богатую тромбоцитами плазму (БоТП) с содержанием тромбоцитов свыше 1000 тыс/мкл, замораживали при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и размораживали при $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$ с целью получения лизата БоТП. Для оценки ростостимулирующего эффекта трансплантатов амниона исследовали следующие группы: контроль 1 — без амниона и без лизата БоТП; контроль 2 — лизат БоТП без амниона; 1-я опытная группа — амнион без лизата БоТП; 2-я опытная группа — образцы амниона, совмещенные с лизатом БоТП. Исследование проводили на примере культуры буккального эпителия человека 3–5-го пассажа. Динамику роста клеток оценивали через 1, 2 и 3 сут с момента посева. Число клеток и их жизнеспособность оценивали с помощью оригинальных методов, основанных на витальном окрашивании клеток и их исследовании с помощью флуоресцентного микроскопа. **Результаты.** Все образцы консервированных амнионов были нетоксичными и не нарушали структурно-функциональных характеристик буккального эпителия. Использование амниона без лизата БоТП не оказывало ростостимулирующего действия на клетки. Среди образцов амниона, совмещенных с лизатом БоТП, наиболее эффективной в течение всего срока исследования была комбинация лиофилизированного амниона и БоТП. **Заключение.** Силиковысушивание, лиофилизация и криоконсервирование амниотической мембраны позволяют получить биосовместимые и нетоксичные трансплантаты. Для насыщения трансплантатов амниона лизатом БоТП наиболее оправданно использовать лиофилизированные амнионы. Комбинация лиофилизированного амниона и лизата БоТП стимулирует рост клеток *in vitro* без нарушения их структурной целостности.

Ключевые слова: амнион; богатая тромбоцитами плазма; лизат тромбоцитов; буккальный эпителий; ростостимулирующий эффект

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Для цитирования: Ченцова Е.В., Боровкова Н.В., Макаров П.В., Боженко Д.А., Пономарев И.Н., Сторожева М.В., Макаров М.С. Биологический эффект комбинации лизата тромбоцитов и амниотической мембраны в культуре буккального эпителия. Российский офтальмологический журнал. 2022; 15 (4): 115–20. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-4-115-120>

The biological effect of a combination of platelet lysate and amniotic membrane in buccal epithelium culture

Ekaterina V. Chentsova¹, Natalia V. Borovkova², Pavel V. Makarov¹, Dmitry A. Bozhenko¹ ✉, Ivan N. Ponomarev², Maya V. Storozheva², Maxim S. Makarov²

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

² N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Bolshaya Sukharevskaya Square 3, Moscow, 129090, Russia
panacelum@gmail.com

Purpose: To study the biological effect of a combination of platelet lysate and amniotic membrane, preserved by various techniques, on human buccal epithelium culture. **Materials and methods.** Human amnion transplants were preserved using 3 methods: silicate drying, lyophilization, cryopreservation. The blood of healthy volunteers was used as a source of platelets. Platelet-rich plasma (PRP) with a platelet content over 1000 thousand/mcl and more was isolated from the donors' blood, frozen at -80 °C and defrosted at 0–4 °C to prepare platelet lysate. Growth-stimulating effect of the amnion transplants was studied in different groups: control group 1 — without amnion and without PRP lysate; control group 2 — PRP lysate without amnion; experimental group 1 — amnion without PRP lysate; experimental group 2 — amnion samples combined with PRP lysate. The study was carried out on the example of human buccal epithelium culture of 3–5 passages. The dynamics of cell growth was evaluated after 1, 2 and 3 days from the moment of seeding. The number of cells and their viability were evaluated using original methods based on vital cell staining and their examination in a fluorescent microscope. **Results.** All samples of preserved amnions were non-toxic and did not damage the structural and functional characteristics of the buccal epithelium. On the other hand, the use of amnion without PRP lysate did not have a growth-stimulating effect on cells. Among the amnion samples combined with PRP lysate, the combination of lyophilized amnion and PRP lysate was the most effective during the entire study period. **Conclusions.** Silicate drying, lyophilization and cryopreservation of the amniotic membrane makes it possible to obtain biocompatible and non-toxic transplants, based on human amnion. Lyophilized amnions are the most optimal for saturating PRP lysate. The combination of lyophilized amnion and PRP lysate stimulates cell growth in vitro without violating their structural integrity.

Keywords: amnion; platelet-rich plasma; platelet lysate; buccal epithelium; growth-stimulating effect

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Chentsova E.V., Borovkova N.V., Makarov P.V., Bozhenko D.A., Ponomarev I.N., Storozheva M.V., Makarov M.S. The biological effect of a combination of platelet lysate and amniotic membrane in buccal epithelium culture. Russian ophthalmological journal. 2022; 15 (4): 115–20 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-4-115-120>

Согласно данным ВОЗ, на долю заболеваний роговицы приходится около четверти всех глазных болезней, вызванная ими слепота составляет 4–5 % среди всех причин слепоты [1]. Развитие дефектов роговицы часто сопровождается нарушением регенераторной функции роговичного эпителия, а также низкой активностью стволовых клеток лимба и стромы [2, 3]. В условиях дефицита жизнеспособных клеток в зоне роговичного дефекта происходит деградация стромы, изъязвление и рубцевание всей поверхности роговицы [2, 4]. Таким образом, высокоактуальной задачей является разработка препаратов, стимулирующих пролиферацию эпителиальных и мезенхимных клеток в роговице. В настоящее время в офтальмохирургии активно используются трансплантаты на основе амниотической мембраны человека. Показано, что клетки в составе амниона секретируют большое количество биологически активных веществ, которые стимулируют рост клеток, а также обладают противовоспалительным, антибактериальным и противовирусным эффектом [5–10]. Большое число исследований свидетельствует о клинической эффективности амниотической мембраны при лечении дефектов роговицы с минимальным воспалением и рубцеванием [6, 7, 9]. Стоит учитывать, что использование нативного амниона чаще всего недоступно в практике ЛПУ,

в связи с этим требуется предварительное консервирование трансплантатов. Наиболее часто для консервации амниотических мембран используют высушивание над силикогелем, лиофилизацию и криоконсервирование [6, 8, 10]. Все эти процедуры так или иначе вызывают изменение нативной структуры амниона, что может сопровождаться значительной потерей репаративных факторов. Перспективным источником факторов репарации является богатая тромбоцитами плазма (БоТП), полученная из собственной крови пациента [11–14]. Одним из распространенных препаратов на основе БоТП является лизат тромбоцитов, который получают путем криодеструкции клеток БоТП. Использование лизата тромбоцитов позволяет насыщать различные матриксы и раневые покрытия ростовыми факторами и другими тромбоцитарными компонентами, которые стимулируют репарацию поврежденных тканей [11, 13]. Можно предположить, что насыщение лизатом тромбоцитов позволит увеличить ростостимулирующие свойства трансплантатов на основе амниотической мембраны.

ЦЕЛЬ работы — оценить биологический эффект комбинации лизата тромбоцитов и амниотической мембраны, консервированной разными способами, на примере культуры буккального эпителия человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

НМИЦ глазных заболеваний им. Гельмгольца и НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (отделение биотехнологий и трансфузиологии) провели в 2022 г. совместное исследование. На культуре буккального эпителия 3–5-го пассажа, полученной от доноров-добровольцев, в рамках первой группы экспериментов исследовали амнионы, консервированные одним из трех способов, а в рамках второй группы — их комбинации с лизатом тромбоцитов. Всего было поставлено 5 серий экспериментов.

Амнионы были консервированы различными способами.

1. Силиковосушенный — изготавливали путем высушивания на поверхности силикатных гранул по стандартной методике [6].

2. Лиофилизированный в вакууме — изготавливали из криоконсервированных амнионов. Образцы отмывали от криопротектора путем помещения в среду DMEM/F12 и инкубировали при температуре 36 °C в течение суток. Затем замораживали до -80 °C и помещали в лиофильную сушилку (Thermo Heto PowerDry PL3000, США). После создания в камере вакуума проводили постепенное нагревание полки, на которой располагался амнион, с 21 до 36 °C со скоростью 1 °C/ч в течение 15 ч. В заключение выдерживали образец в вакууме при температуре 36 °C еще 9 ч.

3. Криоконсервированный в среде Борзенка — Мороз с глицеролом и антибиотиком [10]. Перед использованием данные образцы отмывали от криопротектора путем помещения в среду DMEM/F12 и инкубировали при температуре 36 °C в течение суток.

Силиковосушенные и лиофилизированные в вакууме амнионы дополнительно стерилизовали УФ-лучами в течение часа на расстоянии 10 см от источника.

Лизат тромбоцитов отдельно получали для каждой серии экспериментов. Клетки выделяли из 12 мл венозной крови доноров-добровольцев, забранной из кубитальной вены в вакуумные пробирки с антикоагулянтом EDTA. На первом этапе пробирки центрифугировали 5 мин с ускорением 300 g. Затем из них отбирали и переносили всю супернатантную плазму с тромбоцитами в новые пробирки, но уже с коническим дном (тип Falcon). Далее для концентрации тромбоцитов на дне пробирки с плазмой центрифугировали 17 мин с ускорением 700 g. После этого из пробирки, аккуратно продвигая пипетку сверху вниз, отбирали бедную тромбоцитами плазму в таком объеме, чтобы с клетками ее оставалось порядка 1,2 мл. Осадок тромбоцитов ресуспендировали в оставшейся плазме. В результате получали БоТП с общей концентрацией клеток 1300–1600 тыс/мкл, концентрацией биологически полноценных тромбоцитов (адгезивно активные клетки с гранулами) 620–950 тыс/мкл.

Лизис тромбоцитов вызывали путем замораживания БоТП до -80 °C и медленного размораживания при 0–4 °C. Для удаления фрагментов разрушенных клеток пробирки центрифугировали 20 мин с ускорением 3000 g и отбирали супернатант. Готовый лизат представляет собой плазму с выделенными из тромбоцитов факторами.

Для осуществления 1-й группы экспериментов в лунки 4-луночного планшета (площадь ростовой поверхности лунки $S = 1,9 \text{ см}^2$) укладывали по одному образцу амниона ($S = 0,25 \text{ см}^2$), консервированного одним из способов. Четвертую лунку оставляли пустой для контроля культуры (контроль 1).

В рамках 2-й группы экспериментов образцы амниона ($S = 0,25 \text{ см}^2$), консервированного одним из способов, отделили от целлюлозной подложки и помещали в чашку Петри.

Затем на амнионы пипеткой наносили лизат БоТП объемом 25–60 мкл. Объем лизата был выбран исходя из качества тромбоцитов исходной БоТП и расчетного содержания в них фактора PDGF. По нашим данным, оптимальное количество PDGF составляет 10–15 пг на 10 тыс. высеянных клеток [12]. Чашку Петри закрывали и помещали на 15 мин в инкубатор при температуре 37 °C. После инкубирования амнионы перекладывали в отдельные лунки 4-луночного планшета ($S = 1,9 \text{ см}^2$). В 4-ю лунку вносили лизат в объеме, используемом при комбинировании, — для контрольной оценки ростостимулирующего эффекта лизата БоТП (контроль 2).

Затем в каждую лунку обоих 4-луночных планшетов вносили по 10 тыс. клеток в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10 % бычьей сыворотки и антибиотика-антимикотика (Gibco, США). Последующее культивирование проводили 3 сут с ежедневным контролем динамики роста клеток. Число клеток и их жизнеспособность оценивали с помощью оригинальных методов, основанных на витальном окрашивании клеток и их исследовании во флуоресцентном микроскопе [14]. Для окраски клеток использовали витальные флуорохромные красители трипафлавин — акридиновый оранжевый и трипафлавин — родамин С («Диаэм», Россия). Оценивали содержание клеток в лунке (тыс/см²), общую морфологию клеток, наличие секреторных везикул в клетках, целостность клеточных мембран.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью методов вариационной статистики с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 22. Вычисляли среднее значение (m), среднее квадратичное отклонение (σ), для сравнения количественных данных в двух не связанных между собой выборках использовали t -критерий Стьюдента. Различия между значениями считали достоверными при уровне значимости более 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех опытах с использованием лизата БоТП наблюдалось образование фибриновой пленки. В опытах, где использовали лизат БоТП без амниона, фибриновая пленка формировалась на дне лунок и в толще среды над дном. В опытах с лизатом БоТП и амнионом дно лунок было свободно от фибрина. Рост клеток наблюдался как на дне лунок, так и на поверхности фибриновой пленки над дном, поэтому для оценки общего числа клеток в лунке оценивали число клеток на дне и на фибриновой пленке. В течение 3 сут культивирования высеянные клетки буккального эпителия не адгезировали на поверхности амниона и не мигрировали со дна. Таким образом, для заселения амниона буккального эпителия требуется более продолжительное культивирование. Все образцы амниона не вызывали нарушения структурной целостности клеток и снижения их пролиферативной активности в течение всего срока наблюдения (табл. 1).

При витальном окрашивании в составе криоконсервированных амниотических мембран отчетливо можно было видеть клетки амниотического эпителия с нормальной структурой ядра и цитоплазмы, при этом секреторные везикулы выявлялись очень слабо или вообще не выявлялись. Образцы криоконсервированного амниона не вызывали нарушения структурной целостности клеток культуры буккального эпителия и были биосовместимыми, однако не оказывали выраженного ростостимулирующего действия. Таким образом, трансплантаты амниона, консервированные предложенными способами (силиковосушивание, лиофилизация, криоконсервирование) являлись нетоксичными, поэтому данные методики консервирования могут быть использованы для получения трансплантатов и биоконструк-

ций на основе амниона. Ростостимулирующий эффект мог предположительно иметь место благодаря сохранившимся после криоконсервирования жизнеспособным клеткам амниона, однако в нашем исследовании такой эффект отсутствовал.

В опытах с лизатом БоТП без амниона количество клеток в лунках на 1-е и 2-е сутки достоверно не отличалось от контроля (табл. 1, 2).

Только на 3-и сутки в опытах с лизатом БоТП общее число клеток было достоверно выше, чем без использования лизата БоТП. Комбинация лиофилизированного амниона и лизата БоТП заметно ускоряла рост клеток: уже через сутки в опытах, где использовали лиофилизированный амнион, общее число клеток в 1,3–1,4 раза превышало аналогичный показатель в лунках без лизата БоТП и с лизатом БоТП без амниона ($p < 0,05$). Этот же эффект наблюдался и на 2–3-и сутки. В опытах, где лизат БоТП совмещали с силиковысушенным амнионом, число клеток было выше, чем в контроле (лизат БоТП без амниона), однако статистически значимым это различие было только на 1-е сутки (табл. 2). Использование криоконсервированного амниона в комбинации с лизатом БоТП не вызывало выраженной стимуляции роста клеток буккального эпителия (табл. 2). Можно заключить, что на всех этапах исследования наибольший ростостимулирующий эффект наблюдался в лунках, содержащих лиофилизированный амнион с лизатом БоТП. Таким образом, лиофилизация является наиболее адекватной обработкой амниона для последующего насыщения его лизатом в БоТП.

Несмотря на присутствие в образцах криоконсервиро-

ванного амниона большого числа жизнеспособных клеток, не удалось добиться ускорения роста буккального эпителия *in vitro*, в том числе при дополнительном насыщении таких трансплантатов лизатом БоТП. В литературе есть данные о том, что комбинирование криоконсервированного амниона и препаратов на основе БоТП дает более низкий клинический эффект, нежели использование этих препаратов по отдельности [15, 16]. Не исключено, что содержащиеся в тромбоцитах и препаратах БоТП цитокины разрушаются или поглощаются при контакте с живыми клетками амниона, что в конечном итоге нивелирует репаративный потенциал БоТП. Важно отметить, что в нашей работе лизат БоТП вносили в лунки малого объема, таким образом, разведение плазмы средой было недостаточным для того, чтобы препятствовать фибринообразованию. Фибрин является адгезивным субстратом, однако скорость пролиферации и миграции клеток на фибрине, как и на коллагене, ниже, чем при адгезии клеток на культуральном пластике [17]. Выпадение фибрина в осадок могло несколько уменьшать ростостимулирующий эффект лизата БоТП, особенно на 1-е и 2-е сутки. В связи с этим для работы *in vitro* представляется оправданным использовать лизат суспензии тромбоцитов в бесплазменной среде. Стоит учитывать, что амниотическая мембрана имеет очень малую толщину (0,02–0,50 мм) и способна без потерь адсорбировать только очень небольшие объемы растворимых препаратов. В условиях ЛПУ не всегда есть возможность использования малых аликвот препаратов на основе БоТП. Возможно вымачивание исходных образцов амниона в избытке лизата БоТП, однако при этом очень сложно оценить концентрацию биологически активных веществ, которые распределяются в

Таблица 1. Рост культуры буккального эпителия человека в присутствии трансплантатов амниона, консервированных разными способами

Table 1. Growth of human buccal epithelium culture in the presence of amnion transplants preserved in various ways

Тип образца Sample type	Общее количество клеток в лунке, тыс. Total number of cells in the well, thousand		
	через сутки after 1 day	через 2 сут after 2 days	через 3 сут after 3 days
Контроль (без амниона) Control (without amnion)	26,6 ± 2,2	36,1 ± 4,0	45,2 ± 3,9
Амнион силиковысушенный Silicate — dried amnion	27,3 ± 0,7	39,0 ± 0,7	44,9 ± 1,7
Амнион лиофилизированный Lyophilized amnion	27,1 ± 1,1	39,3 ± 0,8	44,8 ± 1,4
Амнион криоконсервированный Cryopreserved amnion	26,7 ± 0,7	39,1 ± 0,7	44,8 ± 1,3

Таблица 2. Стимуляция роста буккального эпителия человека под действием амниона и лизата тромбоцитов

Table 2. Stimulation of human buccal epithelium growth under the action of amnion and platelet lysate

Тип образца Sample type	Общее количество клеток в лунке, тыс. Total number of cells in the well, thousand		
	через сутки after 1 day	через 2 сут after 2 days	через 3 сут after 3 days
Контроль (лизат БоТП без амниона) Control (lysate PRP without amnion)	27,4 ± 1,9	37,8 ± 4,5	50,7 ± 4,1
Амнион силиковысушенный + лизат БоТП Silicate — dried amnion + lysate PRP	31,9 ± 2,4*	42,5 ± 3,3	52,2 ± 4,5
Амнион лиофилизированный + лизат БоТП Lyophilized amnion + lysate PRP	36,8 ± 4,7*	47,0 ± 1,8*	56,0 ± 3,5*
Амнион криоконсервированный + лизат БоТП Cryopreserved amnion + lysate PRP	28,7 ± 2,2	42,2 ± 2,9	51,7 ± 2,2

Примечание. * — $p < 0,05$ относительно контроля.

Note. * — $p < 0.05$ relative to the control.

амнионе. Кроме того, часто наблюдаемый *in vitro* дозозависимый эффект тромбоцитных препаратов [12, 14] при лечении пациентов может отсутствовать, поскольку *in vivo* препарат не действует непосредственно на определенное количество клеток в закрытом объеме. Клетки могут мигрировать как в область тканевого дефекта, так и из нее, процесс миграции, роста и дифференцировки может заметно меняться во времени; кроме того, *in vivo* весьма вероятно вымывание части объема препарата из зоны дефекта.

Культура буккального эпителия является удобной моделью для тестирования различных препаратов и биоконструкций, предназначенных для офтальмохирургии. Вместе с тем *in vitro* невозможно моделировать воспалительные процессы и учесть все детали. Поэтому для оценки репаративного воздействия амниона, совмещенного с тромбоцитными препаратами, на эпителий роговицы человека необходимо проведение комплексных клинических исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы силиковысушивания, лиофилизации и криоконсервирования амниотической мембраны позволяют получить биосовместимые и нетоксичные трансплантаты на основе амниона человека. При насыщении трансплантатов амниона лизатом БоТП наиболее оправданно использовать лиофилизированные амнионы. Комбинация лиофилизированного амниона и лизата БоТП стимулирует рост клеток *in vitro* без нарушения их структурной целостности

Литература/References

1. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Global Health*. 2021; 9 (2): e 144–60. doi:10.1016/S2214-109X(20)30489-7.
2. Шевлюк Н.Н., Гатиатуллин И.З., Стадников А.А. Особенности репаративных гистогенезов при использовании биопластических материалов. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2020; 9 (1): 86–93. [Shevlyuk N.N., Gatiatullin I.Z., Stadnikov A.A. Features of reparative histogenesis when using bioplastic materials. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2020; 9 (1): 86–93 (in Russian)]. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-1-86-93
3. Куликов А.Н., Чурашов С.В., Черныш В.Ф. и др. Современные подходы к проблеме выбора носителя для культивирования стволовых клеток роговицы в лечении лимбальной недостаточности. *Офтальмологические ведомости*. 2018; 11 (2): 48–56. [Kulikov A.N., Churashov S.V., Chernysh V.F., et al. Modern approaches to the problem of choosing a carrier for the cultivation of corneal stem cells in the treatment of limbal insufficiency. *Ophthalmological journals*. 2018; 11 (2): 48–56 (in Russian)]. doi: 10.17816/OV11248-56.

4. Cabral J.V., Jackson C.J., Utheim T.P., Jirsova K. Ex vivo cultivated oral mucosal epithelial cell transplantation for limbal stem cell deficiency: a review. *Stem Cell Res Ther*. 2020; 11 (1): 301. doi: 10.1186/s13287-020-01783-8
5. Cirman T., Beltram M., Schollmayer P., Rožman P., Kreft M.E. Amniotic membrane properties and current practice of amniotic membrane use in ophthalmology in Slovenia. *Cell and Tissue Banking*. 2013; 15 (2): 177–92. doi: 10.1007/s10561-013-9417-6
6. Nejad A.R., Hamidieh A.A., Amirkhani M.A., Sisakht M.M. Update review on five top clinical applications of human amniotic membrane in regenerative medicine. *Placenta*. 2021; 103: 104–19. doi: 10.1016/j.placenta.2020.10.026
7. Le Q., Deng S.X. The application of human amniotic membrane in the surgical management of limbal stem cell deficiency. *Ocul Surf*. 2019; 17 (2): 221–9. doi: 10.1016/j.jtos.2019.01.003
8. McDaniel J.S., Wehmeyer J.L., Cornell L.E., Johnson A.J., Zamora D.O. Amniotic membrane allografts maintain key biological properties post SCCO2 and lyophilization processing. *J. Biomater Appl*. 2021; 35 (6): 592–601. doi: 10.1177/0885328220952585
9. Walkden A. Amniotic membrane transplantation in ophthalmology: An updated perspective. *Clin Ophthalmol*. 2020; 14: 2057–72. doi: 10.2147/OPTH.S208008
10. Борзенко С.А., Роллик О.И., Онищенко Н.А., Комах Ю.А. О возможности совершенствования консервации донорских роговиц путем применения регуляторных пептидов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2011; 13 (4): 101–5. [Borzenok S.A., Rolik O.I., Onishchenko N.A., Komakh Yu.A. On the possibility of improving the preservation of donor corneas by using regulatory peptides. *Bulletin of transplantology and artificial organs*. 2011; 13 (4): 101–5 (in Russian)]. doi:10.15825/1995-1191-2011-4-101-105
11. Gupta S., Paliczak A., Delgado D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy. *Expert Rev. Hematol*. 2021; 14 (1): 97–108. doi: 10.1080/17474086.2021.1860002
12. Amable P.R., Carias R.B., Teixeira M.V., et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell. Res Ther*. 2013; 4 (3): 67. doi: 10.1186/scrt218
13. Боровкова Н.В., Макаров М.С., Андреев Ю.В., Сторожева М.В., Пономарев И.Н. Оценка цитокинового состава сыворотки крови и препаратов на основе тромбоцитов человека. *Молекулярная медицина*. 2021; 19 (3): 51–7. [Borovkova N.V., Makarov M.S., Andreev Yu.V., Storozheva M.V., Ponomarev I.N. Evaluation of the cytokine composition of blood serum and drugs based on human platelets. *Molecular Medicine*. 2021; 19 (3): 51–7 (in Russian)]. doi: 10.29296/24999490-2021-03-08
14. Makarov M.S., Storozheva M.V., Konyushko O.I., Borovkova N.V., Khvatov V.B. Effect of concentration of Platelet-Derived Growth Factor on proliferative activity of human fibroblasts. *Bull. Exp. Biol Med*. 2013; 155: 576–80. doi: 10.1007/s10517-013-2199-9
15. Abdelghany A.A., Bahrawy M.E., Alio J.L. Combined platelet rich plasma and amniotic membrane in the treatment of perforated corneal ulcers. *Eur. J. Ophthalmol*. 2022; 32 (4): 2148–52. doi: 10.1177/11206721211049100
16. Davis A., Augenstein A. Amniotic allograft implantation for midface aging correction: A retrospective comparative study with platelet-rich plasma. *Aesthetic Plast. Surg*. 2019; 43 (5): 1345–52. doi: 10.1007/s00266-019-01422-5
17. De la Puente P., Ludeña D. Cell culture in autologous fibrin scaffolds for applications in tissue engineering. *Exp. Cell. Res*. 2014; 322 (1): 1–11. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.12.017

Вклад авторов в работу: Е.В. Ченцова, Н.В. Боровкова — разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных; И.Н. Пономарев, М.В. Сторожева — проведение эксперимента, сбор данных и их интерпретация; Д.А. Боженко — проведение эксперимента, подготовка статьи; М.С. Макаров — проведение эксперимента, сбор данных и их интерпретация, финальная обработка; П.В. Макаров — научное редактирование статьи.

Authors' contribution: E.V. Chentsova, N.V. Borovkova — concept and design of the study, data interpretation; I.N. Ponomarev, M.V. Storozheva — conduction of the experiment, data collection and interpretation; D.A. Bozhenko — conduction of the experiment, writing of the article; M.S. Makarov conduction of the experiment, data collection and interpretation, final processing; P.V. Makarov — editing of the article.

Поступила: 22.03.2022. Переработана: 12.05.2022. Принята к печати: 13.05.2022
Originally received: 22.03.2022. Final revision: 12.05.2022. Accepted: 13.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Екатерина Валериановна Ченцова — д-р мед. наук, профессор, начальник отдела травматологии и реконструктивной хирургии
Павел Васильевич Макаров — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отдела травматологии и реконструктивной хирургии
Дмитрий Андреевич Боженко — аспирант-офтальмолог

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia
Ekaterina V. Chentsova — Dr. of Med. Sci., professor, head of the department of traumatology and reconstructive surgery
Pavel V. Makarov — Dr. of Med. Sci., leading researcher, department of traumatology and reconstructive surgery
Dmitry A. Bozhenko — PhD student, leading researcher, department of traumatology and reconstructive surgery

ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы, Большая Сухаревская площадь, д. 3, Москва, 129090, Россия

Наталья Валерьевна Боровкова — д-р мед. наук, заведующая отделением биотехнологий и трансфузиологии

Иван Николаевич Пономарев — канд. мед. наук, хирург, старший научный сотрудник лаборатории трансплантации клеток и иммунотипирования

Майя Викторовна Сторожева — научный сотрудник, отделение биотехнологий и трансфузиологии

Максим Сергеевич Макаров — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, отделение биотехнологий и трансфузиологии

Для контактов: Дмитрий Андреевич Боженко,
panacelium@gmail.com

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Bolshaya Sukharevskaya Square 3, Moscow, 129090, Russia

Natalia V. Borovkova — Dr. of Med. Sci., head of the department of biotechnology and transfusiology

Ivan N. Ponomarev — Cand. of Med. Sci., senior researcher, laboratory of cell transplantation and immunotyping

Maya V. Storozheva — researcher, department of biotechnology and transfusiology

Maxim S. Makarov — Cand. of Biol. Sci., senior researcher, department of biotechnology and transfusiology

Contact information: Dmitry A. Bozhenko,
panacelium@gmail.com