

Научная статья
УДК 617.713
doi: 10.25276/0235-4160-2022-1-13-18

Разработка оптимальных условий криоконсервации тканеинженерных роговичных конструкций

С.А. Борзенко^{1, 2}, С.В. Костенев¹, А.В. Дога¹, В.Г. Ли¹, Д.С. Островский¹, М.Х. Хубецова¹

¹НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва

²МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва

РЕФЕРАТ

Актуальность. В последние годы в условиях дефицита донорских роговиц активно обсуждается необходимость разработки в глазных тканевых банках системы подготовки и хранения стромальных лентикул для их клинического применения в офтальмохирургии. На сегодня имеющиеся работы посвящены поиску оптимальных условий для хранения нативных лентикул. В литературе еще не встречались сообщения о хранении децеллюляризованных лентикул. **Цель.** Разработать оптимальные условия криоконсервации стромальных тканеинженерных роговичных конструкций (ТК) для последующего создания криобанка. **Материал и методы.** Оптические свойства нативных лентикул и ТК оценивали спектрофотометрически. Для создания ТК был использован протокол децеллюляризации с 1,5 М NaCl с ДНКазой 5 Ед/мл и РНКазой 5 Ед/мл. Для дегидратации ТК непосредственно перед криоконсервацией был использован разрешенный к клиническому применению

в офтальмологии дисперсный вискоэластик. Были сформированы три группы сравнения: 1-я – контрольная группа (нативные лентикулы), 2-я – группа без дегидратации ТК, 3-я – группа с дегидратацией ТК. Данные спектрофотометра оценивались в 2 этапа. На 1-м этапе измеряли прозрачность контрольной группы. На 2-м этапе исследовали прозрачность двух опытных групп после хранения в растворе диметилсульфоксида (DMSO) (группа без дегидратации ТК и группа с дегидратацией ТК). **Результаты.** Анализ данных не выявил статистической разницы при сравнении как между группами без дегидратации ТК; с дегидратацией ТК и контролем ($p \geq 0,05$), так и при попарном сравнении групп без дегидратации ТК и групп с дегидратацией ТК ($p \geq 0,05$). **Заключение.** Группы с дегидратацией ТК и без дегидратации ТК после хранения в DMSO не различались по прозрачности. В связи с этим данные группы могут рассматриваться как взаимозаменяемые по оптическим свойствам.

Ключевые слова: криоконсервация, лентикула, роговица, децеллюляризация, тканевая инженерия ■

Для цитирования: Борзенко С.А., Костенев С.В., Дога А.В., Ли В.Г., Островский Д.С., Хубецова М.Х. Разработка оптимальных условий криоконсервации тканеинженерных роговичных конструкций. Офтальмохирургия. 2022;1: 13–18.
<https://doi.org/10.25276/0235-4160-2022-1-13-18>

Автор, ответственный за переписку: Валерий Герасимович Ли, inferno_03@mail.ru

ABSTRACT

Original article

Development optimal conditions for cryopreservation of tissue-engineered corneal constructs

S.A. Borzenok^{1, 2}, S.V. Kostenev¹, A.V. Doga¹, V.G. Li¹, D.S. Ostrovskiy¹, M.K. Khubetsova¹

¹Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russian Federation

²Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Relevance. In recent years, due to the shortage of donor corneas, the need to creating conditions for storing stromal lenticules in eye banks for their clinical use in ophthalmosurgery have been actively discussed. Currently, scientists are looking for optimal conditions for storage native lenticules. There were no reports of storage of decellularized lenticules in the literature. **Purpose.** To develop optimal conditions for cryopreservation of stromal tissue-engineered constructs for the subsequent creation of a cryobank. **Material and methods.** The optical properties of native

lenticules and tissue-engineered corneal constructs (TCs) were assessed using spectrophotometry. We used a decellularization protocol with 1.5 M NaCl with DNase 5 U/ml and RNase 5 U/ml to create TC. Dispersed viscoelastic agent approved for clinical use in ophthalmology was used for dehydration of TC. Three comparison groups were formed: 1st – control group (native lenticules), 2nd – group without dehydration of TC, 3rd – group with dehydration of TC. The spectrophotometer data was evaluated in 2 stages. The transparency of the control group was measured

at 1 stage. At the second stage, the transparency of two experimental groups after storage in DMSO was investigated (a group without dehydration of TC and a group with dehydration of TC). **Results.** When compared between groups without dehydration of TC; with dehydration of TC and the control group ($p \geq 0.05$), no statistical difference was revealed, and when comparing groups without dehydration of TC and groups with dehydration of TC

($p \geq 0.05$), no statistical difference was revealed. **Conclusion.** Groups with dehydration of TC and without dehydration of TC after storage in DMSO did not differ in transparency. In this regard, these groups should be considered as interchangeable in terms of optical properties.

Key words: storage, cryopreservation, lenticule, cornea, decellularization, tissue engineering ■

For quoting: Borzenok S.A., Kostenov S.V., Doga A.V., Li V.G., Ostrovskiy D.S., Khubetsova M.K. Development optimal conditions for cryopreservation of tissue-engineered corneal constructs. Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery. 2022;1: 13–18. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2022-1-13-18>

Corresponding author: Valeriy G. Li, inferno_03@mail.ru

АКТУАЛЬНОСТЬ

Результатом операции Relex SMILE (Refractive Lenticule Extraction – Small Incision Lenticule Extraction) является коррекция миопии и миопического астигматизма. Фемтосекундный лазер с высокой точностью формирует внутри стромы роговицы т.н. лентикулу, которую затем извлекают через разрез 2–3 мм [1]. Интересно, что лентикула, полученная как побочный продукт операции Relex SMILE, открывает широкие возможности для ее применения при лечении различных патологий роговицы [2]. Впервые в 2012 г. R.I. Angunawela и соавт. [3] выполнили повторную трансплантацию лентикулы в эксперименте на животных. Авторы пришли к выводу, что данный метод восстановления объема ткани может помочь при лечении эктазии роговицы и пресбиопии. С тех пор с целью проверки осуществимости и безопасности метода трансплантации лентикулы был проведен ряд исследований на моделях животных [4, 5]. Успешные результаты опытов на животных позволили перейти с фазы доклинических исследований к разработке методики трансплантации лентикулы человеку. Первый клинический случай трансплантации нативной лентикулы для коррекции гиперметропии был описан в 2013 г. K.R. Pradhan и соавт. [6]. В литературе существуют немногочисленные описания случаев использования лентикулы у людей для лечения гиперметропии, пресбиопии, кератоконуса [7–9]. На сегодня изучаются два основных сценария применения донорской стромальной лентикулы. Согласно первому сценарию лентикула трансплантируется непосредственно после выкраивания, при этом отсутствует какая-либо дополнительная обработка нативной лентикулы в рамках одного операционного дня [10]. Однако следует отметить, что в данной ситуации лентикула является аллогенной тканью, с наличием остаточных ядерных и клеточных компонентов, вследствие чего существует риск развития реакции иммунного отторжения. Для решения данной проблемы применяются методы децеллюляризации, относящиеся к технологиям тканевой инженерии [11]. Согласно второму сценарию изъятые лентикулы переносятся в глазной банк (ГБ), в котором обрабатываются и хранятся до клинического использования [12, 13]. Дальнейшее клиническое применение лентикул предполагает либо

использование нативной ткани после размораживания, либо использование готовой тканеинженерной роговичной конструкции (ТК), полученной методом децеллюляризации после размораживания.

В 2017 г. N.G. Lambert и W.D. Chamberlain в рамках обсуждения будущих перспектив развития донорства и роли в нем ГБ сформулировали новую идею, согласно которой существует необходимость создания в будущем стандартизированных процедур в ГБ для хранения и подготовки стромальных нативных лентикул с целевыми рефракционными параметрами для их применения в клинической практике офтальмохирурга [14].

Общезвестно, что после децеллюляризации ТК отекает за счет избыточного присутствия молекул воды внутри коллагеновых волокон, что является критичным моментом, так как криоконсервация может привести к образованию кристаллов льда с дальнейшим разрушением структуры коллагеновых волокон и, как следствие, потере прозрачности лентикул после дефростации.

В данной работе мы попытались изучить влияние предварительной дегидратации ТК перед криоконсервацией на сохранение ее прозрачности после размораживания. В качестве криопротектора использовался диметилсульфоксид (DMSO). ТК получали с помощью метода децеллюляризации, описанного M.A. Shafiq и соавт. [15], который подразумевает использование 1,5 М NaCl с ДНКазой 5 Ед/мл и РНКазой 5 Ед/мл как наиболее эффективного в отношении удаления клеточного материала и сохранения прозрачности ТК. Для дегидратации ТК в нашей работе был использован разрешенный к клиническому применению в офтальмологии дисперсный вискоэластик (ДВ), содержащий 3,0% гиалуронат натрия и 4,0% хондроитин сульфат, массой 600,000 Дальтон.

ЦЕЛЬ

Разработать оптимальные условия криоконсервации стромальных ТК для последующего создания криобанка.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали 64 лентикулы, которые были получены на базе головной организации ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»

Минздрава России после операции ReLex SMILE по поводу миопии и миопического астигматизма. Сферический эквивалент до операции ReLex SMILE составлял $-5,49 \pm 0,63$ дптр. Параметры лентиккулы: толщина 72–148 мкм, диаметр 6,5 мм. Операция по технологии ReLex SMILE проходила под местной капельной анестезией с помощью фемтосекундного лазера VisuMax (частота исследования импульсов 500 кГц, энергия в импульсе 160 нДж), формировалось сначала дно лентиккулы, а затем ее «крышка». Протокол децеллюляризации с использованием 1,5 М NaCl с нуклеазами проводился в лабораторных стерильных условиях *in vitro* на базе Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем головной организации ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Протокол хранения. Образцы опытных групп без предварительной дегидратации ТК и с дегидратацией ТК переносили в криопробирки, содержащие 1 мл 90% «Раствора для хранения роговицы» (среда Борзенка–Мороз) (ООО «НЭП Микрохирургия глаза», Россия) и 10% DMSO (Applichem, США). Затем криопробирки (Corning, США) помещали в контейнер «Coolcell» (Corning, США) и переносили в низкотемпературный морозильник на сутки. Через сутки контейнер переносили в сосуд Дьюара с жидким азотом с постоянной температурой -196°C . Далее через 2 дня образцы сначала размораживали на водяной бане, потом отмывали трехкратно в растворе PBS.

Оценка прозрачности полученных тканеинженерных конструкций. Светопропускную способность лентиккулы оценивали с помощью спектрофотометра Multiskan GO (Thermo Scientific, США) в диапазоне длин волн от 380 до 780 нм, данные собирались с шагом 10 нм. Пропускание спектра проводилось в два этапа. На 1-м этапе измеряли нативные лентиккулы – контрольная группа ($n=25$). На 2-м этапе исследовали прозрачность двух опытных групп после обработки без дегидратации ТК ($n=19$) и с дегидратацией ТК ($n=20$). Все образцы контрольной и опытных групп переносили в 96-луночный планшет, начиная со второй лунки, при этом первая лунка не содержала лентиккулу. В каждую лунку был добавлен раствор ДВ в объеме 250 мкл.

Далее 96-луночный планшет был вставлен в камеру спектрофотометра для измерения коэффициента пропускания (%). Для расчетного значения при статистическом анализе данных использовали среднее для всей группы по 41 точке прозрачности полученного спектра. Для этого сначала был рассчитан T_0 следующим образом:

$$T_0 = \frac{T_1}{T_2} \cdot 100\%$$

где T_0 – коэффициент пропускания для каждой из 41 точки спектра в пределах одного образца группы; T_1 – коэффициент пропускания лунки с образцом; T_2 – коэффициент пропускания лунки без образца.

Затем был рассчитан T_c следующим образом:

$$T_c = \frac{\sum T_0}{n}$$

где T_c – средний коэффициент пропускания для каждой из 41 точки спектра всех образцов группы; $\sum T_0$ – сумма всех измерений каждого образца в группе; n – общее количество образцов в группе.

Далее был рассчитан T_n следующим образом:

$$T_n = \frac{\sum T_c}{41}$$

где T_n – средний коэффициент пропускания для всех 41 точек спектра группы в целом; $\sum T_c$ – суммарное значение среднего коэффициента пропускания; 41 – количество точек спектра, в диапазоне длины волны от 380–780 нм, шаг 10 нм.

На *рисунке 1* указаны этапы работы с лентиккулой.

Анализ данных проводили с помощью методов описательной и параметрической статистики. В качестве описательных статистик переменных использовали среднее со стандартным отклонением ($M \pm SD$) и медиану с межквартильным размахом (Me (1–3 квантили)). Нормальность распределения переменных оценивали с использованием теста Шапиро–Уилка. Гомогенность дисперсий оценивали с помощью теста Бартлетта. Для сравнения прозрачности лентиккул использовали дисперсионный анализ с апостериорными сравнениями с поправкой Тьюки. При оценке результатов статистически значимыми считали результаты при значениях $p < 0,05$. Данные визуализировали с помощью программного софта GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, Inc., США). Анализ полученных данных проводили с использованием среды для статистических вычислений R версии 4.0.2. (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как видно из *рисунка 2*, в группе с дегидратацией ТК прозрачность незначительно снижена по сравнению с контролем на ближнем спектре видимого света, а наиболее приближена к контролю была группа без дегидратации.

Однако проведенный анализ не выявил статистически значимых различий (*рис. 3*) в группах: контроль-группа без дегидратации ТК ($89,23 \pm 3,89$ против $88,33 \pm 2,84$; $89,69$ ($86,19-91,60$) против $88,19$ ($87,13-90,10$); $p \geq 0,05$); контроль-группа с дегидратацией ТК ($89,23 \pm 3,89$ против $87,47 \pm 3,71$; $89,69$ ($86,19-91,60$) против $87,40$ ($86,19-90,55$); $p \geq 0,05$); группа без дегидратации ТК – группа с дегидратацией ТК ($88,33 \pm 2,84$ против $87,47 \pm 3,71$; $88,19$ ($87,13-90,10$) против $87,40$ ($86,19-90,55$); $p \geq 0,05$) соответственно.

В целом прозрачность лентиккул опытных групп не отличалась от контрольной (*рис. 4*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Основным преимуществом хранения лентиккул в ГБ является возможность их использования в будущей пер-

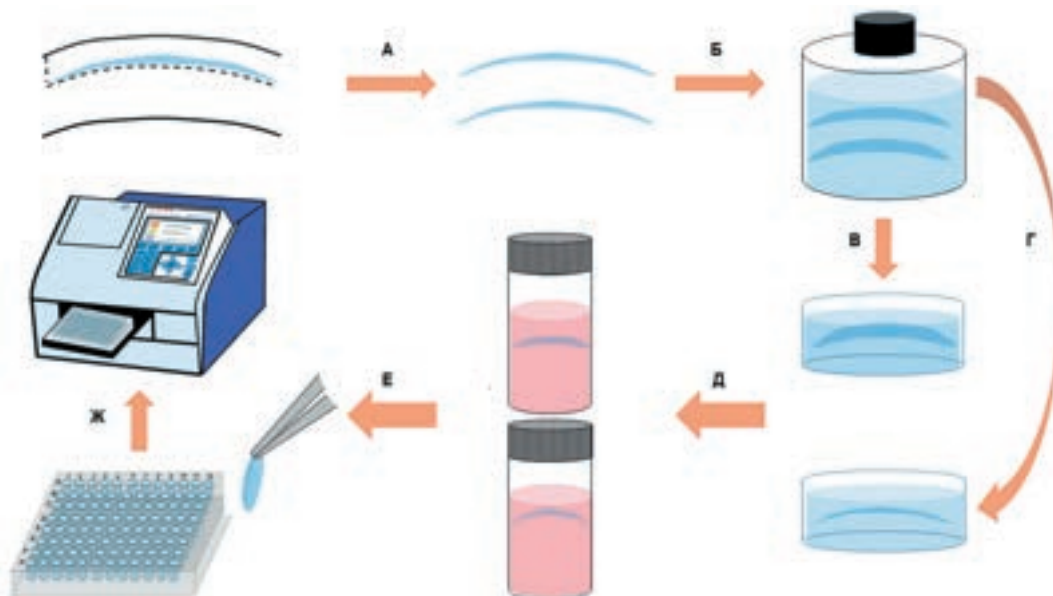


Рис. 1. Схема этапов работы с лентикулой, где: а – формирование и извлечение лентикулы с последующей транспортировкой в глазной банк; б – получение ТК с использованием протокола децеллюляризации; в – ТК без добавления дисперсного вискоэластика; г – ТК с добавлением дисперсного вискоэластика; д – перенос ТК в DMSO и раствор для хранения роговицы; е – перенос ТК в 96-луночный планшет; ж – анализ прозрачности образцов на спектрофотометре

Fig. 1. Diagram of the steps of work with lenticules, where: а – the formation and extraction of the lenticules with subsequent transportation to the eye bank; б – receiving TC using the decellularization protocol; в – TC, without the addition of dispersed viscoelastic agent; г – TC, with the addition of dispersed viscoelastic agent; д – transfer of TC into DMSO and corneal storage solution; е – transfer of TC into a 96-well plate; ж – analysis of the transparency of samples in a spectrophotometer

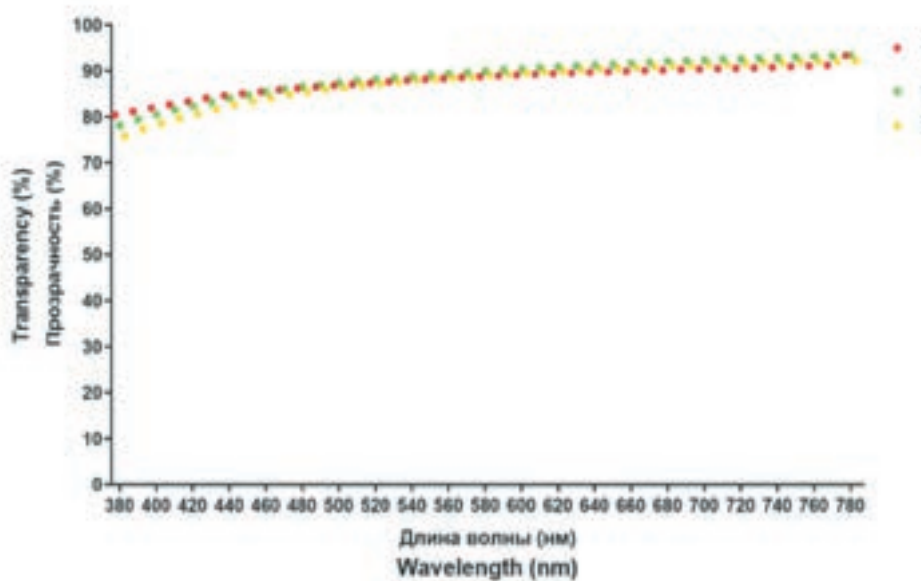


Рис. 2. Среднее спектральное пропускание на длинах волн от 380 до 780 нм, где: 1 – контрольная группа; 2 – группа без дегидратации ТК; 3 – группа с дегидратацией ТК

Fig. 2. Average spectral transmittance at wavelengths from 380 to 780 Nm, where: 1 – control group; 2 – group without dehydration of TC; 3 – group with dehydration of TC

спективе для лечения патологий роговицы. Однако существует ряд недостатков, которые ограничивают широкое внедрение технологий в клиническую практику.

К недостаткам следует отнести проблему транспортировки образцов до ГБ, и наоборот. Также к недостаткам относятся отсутствие необходимых условий для децел-

люляризации замороженных нативных лентикул после доставки в медицинские учреждения, так как в большинстве случаев медучреждения не имеют оптимальных лабораторных условий, предполагающих наличие обученных данным технологиям квалифицированных кадров, специализированного оборудования, расходных материалов и пр. В связи с этим более привлекательным представляется следующий порядок работы с лентиккулярной тканью, предполагающий два этапа. На 1-м этапе после доставки образцов в ГБ необходимо сначала провести методику децеллюляризации для создания ТК. Далее, на 2-м этапе, готовую ТК необходимо заморозить и хранить в ГБ до клинического применения. По-нашему мнению, это является принципиальным моментом, так как создание ТК и его хранение на базе одного учреждения позволит решить вышеуказанные недостатки. На сколько нам известно, в литературе еще не было сообщений по хранению ТК.

В 2020 г. была предложена интерактивная программа European Good Tissue and Cells Practices II (EuroGTP II), разработанная при поддержке Европейской комиссии [16]. Инструмент EuroGTP II помогает оценить и определить стратегии снижения риска для внедрения новых тканевых и клеточных технологий в клиническую практику. Для этого были оценены три типа стромальных лентикул: криоконсервированные, дегидратированные и децеллюляризованные. Фактически инструмент EuroGTP II является продолжением реализации идеи о стандартизации процедур хранения лентикул в ГБ, предложенных в 2017 г. N.G. Lambert и W.D. Chamberlain [14].

В данной работе мы провели сравнение прозрачности ТК с дегидратацией и без дегидратации после хране-

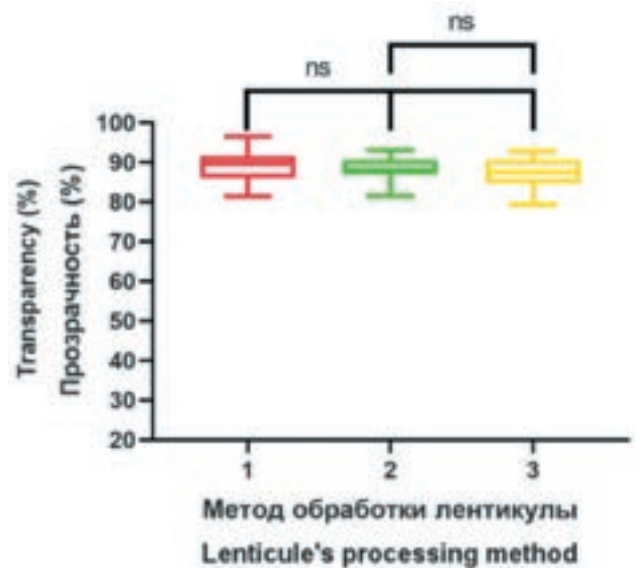


Рис. 3. Графики сравнения прозрачности, где: 1 – контрольная группа; 2 – группа без дегидратации ТК; 3 – группа с дегидратацией ТК (ns – $p \geq 0,05$)

Fig. 3. Graphs comparing transparency, where: 1 – control group; 2 – group without dehydration of TC; 3 – group with dehydration of TC (ns – $p \geq 0,05$)

ния в DMSO. Мы не наблюдали различий при сравнении как между опытными группами и контролем ($p \geq 0,05$), так и при сравнении между опытными группами ($p \geq 0,05$). Предварительная дегидратация ТК может незначительно снижать его прозрачность в сравнении с контролем при отсутствии статистически значимых различий. По-видимому, данное обстоятельство связано с тем, что



Рис. 4. Фотографии нативных и децеллюляризованных лентикул после криоконсервации, где: а – контрольная группа; б – группа без дегидратации ТК; в – группа с дегидратацией ТК

Fig. 4. Pictures of native and decellularized lenticules after cryopreservation, where: а – control group; б – group without dehydration of TC; в – group with dehydration of TC

ДВ обволакивает ТК и за счет дегидратирующего свойства вытягивает избыточную жидкость из ткани. Однако из-за обволакивания создаются дополнительные ограничивающие условия для проникновения криопротектора в коллагеновые волокна. Хотя группа без дегидратации ТК является отечной, DMSO лучше проникает в ТК из-за отсутствия барьера в виде ДВ. В нашем исследовании группа без дегидратации ТК показала наиболее приближенную к контролю прозрачность. DMSO является внутриклеточным криопротектором, механизм действия которого связан с его проникновением внутрь клетки и созданием связей с молекулами воды с помощью водородных связей, тем самым DMSO препятствует кристаллообразованию на клеточном уровне. В литературе существуют данные об успешном применении DMSO в качестве криопротектора для свежих лентикул на различных сроках хранения [17, 18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании нашего исследования мы наблюдали, что группы с дегидратацией ТК и без дегидратации ТК после хранения в DMSO не различались по прозрачности. В связи с этим данные группы могут рассматриваться как взаимозаменяемые по оптическим свойствам. В настоящее время остается неясным влияние различных криопротекторов на структуры внеклеточного матрикса тканеинженерных роговичных конструкций. Данный факт является предметом будущих исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sekundo W, Kunert KS, Blum M. Small incision corneal refractive surgery using the small incision lenticule extraction (SMILE) procedure for the correction of myopia and myopic astigmatism: results of a 6 month prospective study. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(3): 335–339. doi: 10.1136/bjo.2009.174284
2. Jacob S, Dhawan P, Tsatsos M, et al. Fibrin glue-assisted closure of macroperforation in predecescemic deep anterior lamellar keratoplasty with a donor obtained from small incision lenticule extraction. *Cornea*. 2019;38(6): 775–779. doi: 10.1097/ICO.0000000000001918
3. Angunawela RI, Riau AK, Chaurasia SS, et al. Refractive lenticule re-implantation after myopic ReLEx: a feasibility study of stromal restoration after refractive surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(8): 4975–4985. doi: 10.1167/iov.12-10170
4. Williams GP, Wu B, Liu YC, et al. Hyperopic refractive correction by LASIK, SMILE or lenticule reimplantation in a non-human primate model. *PLoS One*. 2018;13(3): e0194209. doi: 10.1371/journal.pone.0194209
5. Zhao J, Shen Y, Tian M, et al. Corneal lenticule allotransplantation after femtosecond laser small incision lenticule extraction in rabbits. *Cornea*. 2017;36(2): 222–228. doi: 10.1097/ICO.0000000000001076
6. Pradhan KR, Reinstein DZ, Carp GI, et al. Femtosecond laser-assisted keyhole endokeratophakia: correction of hyperopia by implantation of an allogeneic lenticule obtained by SMILE from a myopic donor. *J Refract Surg*. 2013;29(11): 777–782. doi: 10.3928/1081597X-20131021-07
7. Sun L, Yao P, Li M, et al. The Safety and predictability of implanting autologous lenticule obtained by SMILE for hyperopia. *J Refract Surg*. 2015;31(6): 374–379. doi: 10.3928/1081597X-20150521-03
8. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, et al. Preliminary evidence of successful near vision enhancement with a new technique: prEsbyopic allogeneic refractive lenticule (PEARL) corneal inlay using a SMILE lenticule. *J Refract Surg*. 2017;33(4): 224–229. doi: 10.3928/1081597X-20170111-03
9. Zhao J, Shang J, Zhao Y, et al. Epikeratophakia using small-incision lenticule extraction lenticule addition combined with corneal crosslinking for keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2019;45(8): 1191–1194. doi: 10.1016/j.jcrs.2019.03.010
10. Lazaridis A, Reinstein DZ, Archer TJ, et al. Refractive lenticule transplantation for correction of iatrogenic hyperopia and high astigmatism after LASIK. *J Refract Surg*. 2016;32(11): 780–786. doi: 10.3928/1081597X-20160726-01

11. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SE. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12): 3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057
12. Ganesh S, Brar S, Rao PA. Cryopreservation of extracted corneal lenticules after small incision lenticule extraction for potential use in human subjects. *Cornea*. 2014;33(12): 1355–1362. doi: 10.1097/ICO.0000000000000276
13. Tripathi H, Mehdi MU, Gupta D, et al. Long-term preservation of donor corneas in glycerol for keratoplasty: exploring new protocols. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(2): 284–290. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-306944
14. Lambert NG, Chamberlain WD. The structure and evolution of eye banking: a review on eye banks' historical, present, and future contribution to corneal transplantation. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*. 2017;5: 23–40. doi: 10.2147/BSAM.S114197
15. Shafiq MA, Gemeinhart RA, Yue BY, Djalilian AR. Decellularized human cornea for reconstructing the corneal epithelium and anterior stroma. *Tissue Eng Part C Methods*. 2012;18(5): 340–348. doi: 10.1089/ten.TEC.2011.0072
16. Trias E, Gallon P, Ferrari S, et al. Banking of corneal stromal lenticules: a risk-analysis assessment with the EuroGTP II interactive tool. *Cell Tissue Bank*. 2020;21(2): 189–204. doi: 10.1007/s10561-020-09813-8
17. Mohamed-Noriega K, Toh KP, Poh R, et al. Cornea lenticule viability and structural integrity after refractive lenticule extraction (ReLEx) and cryopreservation. *Mol Vis*. 2011;17: 3437–3449. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4218759/> [Accessed 11th February 2021]
18. Liu YC, Williams GP, George BL, et al. Corneal lenticule storage before reimplantation. *Mol Vis*. 2017;23: 753–764. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5661854/> [Accessed 11th February 2021]

Информация об авторах

Сергей Анатольевич Борзенко, д.м.н., профессор, mdborzenok@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Сергей Владимирович Костенев, д.м.н., старший научный сотрудник, kostenev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-7669>

Александр Викторович Дога, д.м.н., профессор, alexander_doga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2519-8941>

Валерий Герасимович Ли, аспирант, inferno_03@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7542-3126>

Дмитрий Сергеевич Островский, к.б.н., научный сотрудник, dmitriy.ostrovskiy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Мадина Хетаговна Хубецова, к.м.н., porporina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-8750>

Information about the authors

Sergey A. Borzenok, Doctor of Science (Medicine), Professor, mdborzenok@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Sergey V. Kostenev, Doctor of Science (Medicine), senior researcher, kostenev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-7669>

Alexander V. Doga, Doctor of Science (Medicine), Professor, alexander_doga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2519-8941>

Valeriy G. Li, postgraduate doctor, inferno_03@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7542-3126>

Dmitriy S. Ostrovskiy, Candidate of Biological Sciences, researcher, dmitriy.ostrovskiy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Madina K. Khubetsova, Candidate of Medical Sciences, porporina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-8750>

Вклад авторов в работу:

С.А. Борзенко: существенный вклад в концепцию и дизайн работы.

С.В. Костенев: окончательное утверждение версии.

А.В. Дога: существенный вклад в концепцию и дизайн работы.

В.Г. Ли: сбор, анализ и обработка материала, написание текста.

Д.С. Островский: статистическая обработка данных.

М.Х. Хубецова: редактирование.

Authors' contribution:

S.A. Borzenok: significant contribution to the concept and design of the work.

S.V. Kostenev: final approval of the version to be published.

A.V. Doga: significant contribution to the concept and design of the work.

V.G. Li: collection, analysis and processing of material, writing the text.

D.S. Ostrovskiy: statistical data processing.

M.K. Khubetsova: editing.

Финансирование: Авторы не получали конкретный грант на это исследование от какого-либо финансирующего агентства в государственном, коммерческом и некоммерческом секторах.

Согласие пациента на публикацию: Письменного согласия на публикацию этого материала получено не было. Он не содержит никакой личной идентифицирующей информации.

Конфликт интересов: Отсутствует.

Funding: The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Patient consent for publication: No written consent was obtained for the publication of this material. It does not contain any personally identifying information.

Conflict of interest: There is no conflict of interest.

Поступила: 22.07.2021

Переработана: 18.09.2021

Принята к печати: 24.11.2021

Originally received: 22.07.2021

Final revision: 18.09.2021

Accepted: 24.11.2021