

УДК 617.7

## ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ/ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<sup>1,2</sup>Паштаев Н.П., <sup>1,2</sup>Поздеева Н.А., <sup>3</sup>Радаев С.М., <sup>1</sup>Макарова О.Г.,  
<sup>2</sup>Куликов И.В., <sup>2</sup>Богданова А.О.

<sup>1</sup>Чебоксарский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»  
Минздрава России, Чебоксары, e-mail: prmntk@mail.ru;

<sup>2</sup>Автономное учреждение Чувашской Республики «Институт усовершенствования врачей»  
Министерства здравоохранения и социального развития Чувашской Республики,  
Чебоксары, e-mail: ipiuv@medinform.su;

<sup>3</sup>Общество с ограниченной ответственностью «КриоЦентр»,  
Москва, e-mail: cryocenter@cryocenter.ru

С целью определения безопасности применения различной концентрации ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови проведены экспериментальные исследования на кроликах породы Шиншилла. В супрахориоидальное пространство и субтеноновое пространство глазного яблока был введен донорский материал. При проведении морфологического исследования было выявлено отсутствие патологической реакции со стороны структур глазного яблока на введение стволовых клеток пуповинной крови. В то же время выявилось образование инородных включений в наружных оболочках глазного яблока в виде полигональных фрагментов с перифокальной пролиферацией фиброцитов в ответ на введение реополиглукина. Таким образом, экспериментальные исследования по трансплантации концентрата ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови на кроликах показали безопасность их использования в офтальмологии данным способом.

**Ключевые слова:** концентрат ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови, субтеноновое введение, супрахориоидальное введение

## USE OF NUCLEUS CONTAINING CELLS CONCENTRATE OF UMBILICAL/PLACENTAL BLOOD IN OPHTHALMOLOGY: EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS

<sup>1,2</sup>Pashtaev N.P., <sup>1,2</sup>Pozdeeva N.A., <sup>3</sup>Radaev S.M., <sup>1</sup>Makarova O.G.,  
<sup>2</sup>Kulikov I.V., <sup>2</sup>Bogdanova A.O.

<sup>1</sup>Fyodorov Eye Surgery Complex in Cheboksary, Cheboksary, e-mail: prmntk@mail.ru;

<sup>2</sup>Autonomous Institution of the Chuvash republic «Doctors Perfection Institute» Ministry of health care and social development of the Chuvash Republic, Cheboksary, e-mail: ipiuv@medinform.su;

<sup>3</sup>Limited responsibilities society «CryoCentr», Moscow, e-mail: cryocenter@cryocenter.ru

Experimental investigations on Chinchilla rabbits were undertaken in order to find out safety of use of different concentration of nucleus containing cells of umbilical/placental blood. Donor material was introduced into suprachoroidal space and subtenon space of eyeball. Morphological examination revealed no pathologic reaction to placental blood stem cells introduction in eyeball structures. At the same time formation of foreign insertions represented by polygon fragments with perifocal proliferation of fibrocytes in exterior membranes of eyeball as reaction to reopolyglucine was found out. So experimental investigations in transplantation of concentrate of umbilical/placental blood nucleus containing cells in rabbits showed safety of its use in ophthalmology.

**Keywords:** concentrate of umbilical/placental blood nucleus containing cells, subtenon introduction, suprachoroidal introduction

Поиск новых эффективных методов лечения патологии сетчатки чрезвычайно актуален для современной офтальмологии, поскольку нарушение структурной организации и функциональной активности сетчатки неизбежно приводит к безвозвратной потере зрения.

В последнее десятилетие во всем мире наблюдается устойчивая тенденция: количество заболеваний глаз у пациентов всех возрастных групп стремительно увеличивается. Такая тенденция не удивительна, если учитывать уровень стрессов, колоссальные

зрительные нагрузки, проживание в экологически неблагоприятной среде, обеднение продуктов питания жизненно необходимыми для организма биологически активными веществами и другие не менее важные обстоятельства, приводящие к ухудшению здоровья в целом и состояния глаз в частности. Следует также учитывать увеличение средней продолжительности жизни и связанное с этим постарение человеческой популяции, на фоне которого значительно повышается частота выявления патологий зрительного нерва и сетчатки, обусловлен-

ных возрастными изменениями органа зрения.

В настоящее время для лечения офтальмологических заболеваний предложен широкий спектр методов, среди которых значительное распространение получила и медикаментозная терапия. Следует отметить, что отсутствуют достаточно эффективные методики лечения прежде всего дегенеративных процессов в сетчатке и зрительном нерве. В этой связи в последние годы активно обсуждается использование клеточных технологий.

Стволовые клетки обладают высокими пролиферативными способностями и представляют собой самоподдерживающуюся популяцию клеток, способных дифференцироваться в различных направлениях, и занимают самую начальную ступень гистогенетического ряда. Среди изучаемых направлений в различных областях медицины в последние годы внимание привлекает применение стволовых клеток пуповинной/плацентарной крови. Клетки пуповинной крови представляют собой уникальную клеточную популяцию, отличающуюся от клеток, получаемых из других источников, в том числе, эмбриональных, фетальных и «взрослых». Их уникальность заключается в том, что это единственный тип клеток постнатального происхождения, способный при трансплантации поддерживать кроветворение и формировать полноценную иммунную систему человека, благодаря образованию В- и Т-лимфоцитов и дендритных клеток, формированию первичных и вторичных лимфоидных органов и продукции функциональных иммунных ответов.

**Цель исследования:** изучение безопасности субтенонового и супрахориоидального применения различной концентрации ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови в условиях эксперимента.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследования проведены на 15 кроликах (30 глаз) породы Шиншилла, разделенных на две группы. Изучение первой группы проводилось для определения безопасной для структур глазного яблока концентрации ядросодержащих клеток пуповинной крови. Вторая же группа кроликов исследовалась для определения характера воздействия компонентов вводимого донорского материала на структуры глазного яблока.

Первая группа включала в себя 9 кроликов (18 глаз), разделенных на три подгруппы по 3 кролика. Каждому объекту исследования вводился изучаемый материал. Кроликам первой подгруппы в правый глаз трансплантировали донорский материал в виде суспензии в субтеноновое пространство в дозе 1 млн. клеток в 0,2 мл раствора, в левый глаз – под сосудистую оболочку в дозе 500 тыс. клеток в 0,1 мл раствора. Кроликам второй и третьей подгруппы вводились стволовые клетки в дозе 500 тыс.

и 50 тыс. клеток соответственно в субтеноновое пространство, 250 тыс. и 25 тыс. клеток соответственно в супрахориоидальное пространство. В качестве донорского материала использовался концентрат ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови, представляющий собой стерильный опалесцирующий раствор бледно-розового цвета, состоящий из физиологического раствора с добавлением реополиглобина и человеческого сывороточного альбумина и содержащий суспензию ядросодержащих клеток пуповинной крови.

Вторая группа исследования включала 6 кроликов (12 глаз), разделенных на две подгруппы по 3 кролика. В каждый глаз объектов исследования в субтеноновое пространство инъецировали по 0,2 мл следующих растворов: раствор альбумина и раствор альбумина с содержанием стволовых клеток в правый и левый глаза кролей первой подгруппы соответственно, физиологический раствор и физиологический раствор с содержанием стволовых клеток в правый и левый глаза кролей второй подгруппы.

Гистологическое исследование энуклеированных глаз кроликов проводили через 1 месяц после оперативного вмешательства. Глаза подвергали парафиновой проводке, полутонкие срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Фоторегистрацию гистологического материала проводили цифровой камерой TC 5.00.

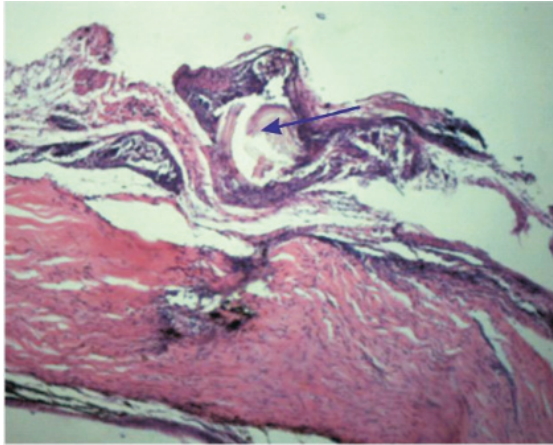
#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Результаты гистологических исследований экспериментальных животных первой группы показали, что введение различной дозы концентрата ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови в субтеноновое и супрахориоидальное пространство не приводит к существенным отличиям в морфологических изменениях структур глазного яблока. Однако во всех глазах с введенным донорским материалом над склерой и в толще склеральной оболочки были выявлены инородные включения, определяющиеся морфологически в виде полигональных с незначительной вариацией размеров фрагментов с перифокальной пролиферацией фиброцитов (рис. 1).

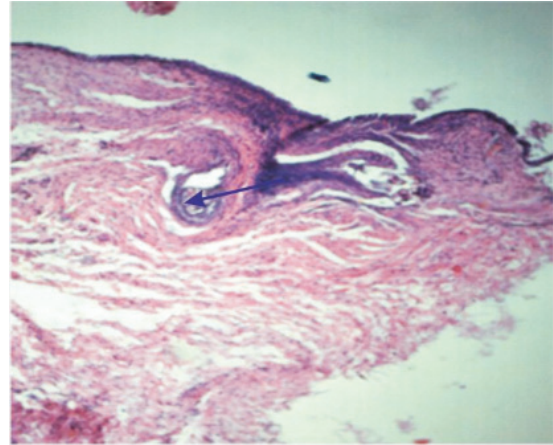
Анализируя полученные данные гистологического исследования и оценивая все компоненты вводимого донорского материала, было высказано предположение, что основной причиной образования вышеперечисленных включений является раствор реополиглобина. Реополиглобин является весьма эффективным плазмозаменителем, однако характеризуется наличием некоторых недостатков. Во-первых, декстраны относятся к чужеродным веществам и в связи с крупномолекулярной структурой лишь частично фильтруются через базальную мембрану эндотелия сосудов. Во-вторых, немаловажным недостатком декстранов является присущая им, как и другим полисахарам, способность вызывать анти-телообразование, что возможно объясняет

причину образования перифокальной пролиферативной реакции. Для подтверждения наших предположений было продолжено экспериментальное исследование на второй группе кроликов. Всем животным второй группы были введены все компоненты донорского материала за исключением реополиглокина. Во всех глазах было выявлено отсутствие инородных включений и патологических из-

менений со стороны структур глазного яблока (рис. 2). В эписклере группа питающих сосудов расположена в рыхлой, нежноволокнистой строме, бедной клеточными элементами. Склера, сосудистая оболочка не изменены. Толщина сосудистой оболочки топографически варьирует. Световоспринимающий слой сетчатки местами артефактно, с большим зазором отсослоен от сосудистой оболочки.

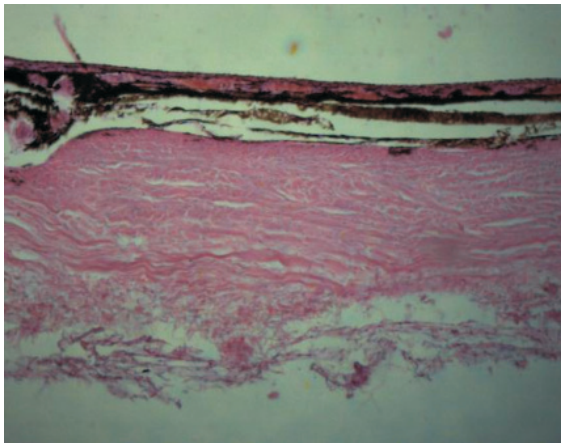


а

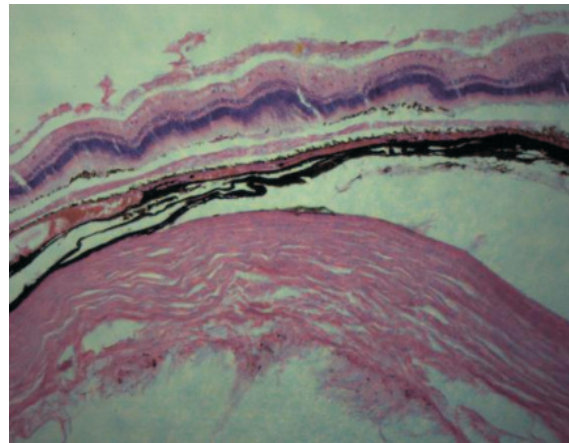


б

*Рис. 1. Инородные включения с перифокальной пролиферацией фиброцитов: а – включения в эписклере при субтеноновом введении стволовых клеток; б – включения в толще склеры при супрахориоидальном введении стволовых клеток*



а



б

*Рис. 2. Морфологическая картина оболочек глазного яблока через месяц после введения концентрата ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови: а – после введения раствора альбумина с содержанием стволовых клеток в субтеноновое пространство; б – после введения физиологического раствора с содержанием стволовых клеток в субтеноновое пространство*

### Заключение

Резюмируя сказанное, можно предположить, что введение концентрата ядродержащих клеток пуповинной/плацентарной крови в субтеноновое и супрахориоидальное пространства безопасно для структур глазного яблока. Необходимо также отметить, что раствор реополиглобулина, входящий в состав вводимой суспензии, оказывает неблагоприятное воздействие в виде образования патологических включений в оболочках глаза.

### Список литературы

1. Гундорова Р.А., Ченцова Е.В. Клеточные технологии в офтальмологии: 10-летний опыт экспериментальных исследований и перспективы в клинике // Российский офтальмологический журнал. – 2008. – Т. 1. – № 1. – С. 45–49.
2. Пальцева М.А., Смирнова В.Н. Терапевтический потенциал клеток пуповинной крови при негематологических заболеваниях. – М., 2011. – 176 с.
3. Смолянинов А.Б., Хурцилава О.Г., Тыренко В.В. с соавт. Современная стратегия регенеративной терапии и безопасность применения аллогенных стволовых клеток пуповинной крови при нейродегенеративных заболеваниях // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 4. – № 4. – С. 14–20.
4. Тахчиди Х.П., Гаврилова Н.А., Комова О.Ю. с соавт. Влияние стволовых/прогениторных клеток на функциональное состояние и степень выраженности дегенеративных изменений сетчатки у крыс линии Campbell // Офтальмохирургия. – 2010. – № 3. – С. 33–38.
5. Ченцова Е.В., Пак Н.В., Зуева М.В. с соавт. Влияние трансплантации нейральных стволовых клеток на процессы регенерации сетчатки в эксперименте // Российский офтальмологический журнал. – 2012. – Т. 5. – № 4. – С. 83–88.