

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОБЛЕМЕ ВЫБОРА НОСИТЕЛЯ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РОГОВИЦЫ В ЛЕЧЕНИИ ЛИМБАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

© А.Н. Куликов<sup>1</sup>, С.В. Чурашов<sup>1</sup>, В.Ф. Черныш<sup>1</sup>, М.И. Блинова<sup>2</sup>,  
О.И. Александрова<sup>2</sup>, В.В. Карпович<sup>1</sup>, Ю.И. Хорольская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург

Для цитирования: 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. — Т. 11. — № 2. — С. 48–56. doi: 10.17816/OV11248-56

Поступила в редакцию: 23.01.2018

Принята к печати: 02.03.2018

✧ Заболевания и повреждения глазной поверхности — одна из распространённых причин снижения зрения и слепоты. Важную роль в развитии патологических процессов при данных состояниях играет дисфункция либо гибель лимбальных эпителиальных стволовых клеток (ЛЭСК), что приводит к развитию лимбальной недостаточности (ЛН). В настоящее время одним из способов лечения ЛН является трансплантация культивированных *ex vivo* ЛЭСК. Самым распространённым в мире носителем для культивирования ЛЭСК выступает амниотическая мембрана (АМ). Однако наличие определённых трудностей при использовании АМ для культивирования ЛЭСК ставит задачи по поиску новых видов носителей, изготавливаемых из биологических или синтетических материалов. В данном обзоре нами проведён анализ различных видов носителей: коллагена, фибрина, хитозана с желатином, фиброина шёлка, кератина, контактных линз, полилактид-ко-гликолида, поликапролактона, а также рассмотрена возможность их применения для культивирования ЛЭСК с последующей трансплантацией на глазную поверхность.

✧ **Ключевые слова:** глазная поверхность; роговица; лимбальные эпителиальные стволовые клетки; культивирование; носители.

**CURRENT APPROACHES TO THE PROBLEM OF CARRIER SELECTION FOR LIMBAL STEM CELLS CULTIVATION IN THE TREATMENT OF LIMBAL STEM CELL DEFICIENCY**

© A.N. Kulikov<sup>1</sup>, S.V. Churashov<sup>1</sup>, V.F. Chernish<sup>1</sup>, M.I. Blinova<sup>2</sup>, O.I. Alexandrova<sup>2</sup>,  
V.V. Karpovich<sup>1</sup>, Y.I. Khorolskaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kulikov AN, Churashov SV, Chernish VF, et al. Current approaches to the problem of carrier selection for limbal stem cells cultivation in the treatment of limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology Journal*. 2018;11(2):48-56. doi: 10.17816/OV11248-56

Received: 23.01.2018

Accepted: 02.03.2018

✧ Diseases and damages of the ocular surface are one of the common causes of decreased vision and blindness. Dysfunction or death of limbal epithelial stem cells (LESC) plays an important role in the development of pathological processes in these conditions, which leads to the development of the limbal stem cell deficiency (LSCD). Currently, one of the methods to treat LSCD is a transplantation of cultured *ex vivo* LESK. The most common carriers for the cultivation of LESK in the world is the amniotic membrane (AM). However, the presence of certain disadvantages in using AM for the cultivation of LESK compels to search new types of carriers made from biological or synthetic materials. In this review, we have analyzed various

types of carriers: collagen, fibrin, chitosan with gelatin, silk fibroin, keratin, contact lenses, polylactide-co-glycolide, polycaprolactone, and the possibility of their application as carriers for the LESC cultivation followed by transplantation on the ocular surface is considered.

✦ **Keywords:** ocular surface; cornea; limbal epithelial stem cells; cultivation; carriers.

Лечение заболеваний и повреждений глазной поверхности, при которых имеется выраженная несостоятельность процессов регенерации, приводящая к значительному снижению остроты зрения и слепоте, остаётся актуальной проблемой офтальмологии. По данным отечественных авторов [5], число слепых и слабовидящих в Российской Федерации, зарегистрированных Всероссийским обществом слепых в 2003 г., было равно 224 тыс. человек, а уровень слепоты и слабовидения — 15,2 на 10 тыс. населения. Среди таких пациентов удельный вес патологии роговицы составляет от 10 до 50 % [4, 6].

Во время современных локальных войн и вооружённых конфликтов на долю взрывных поражений органов зрения приходится до 80–90 % от всех огнестрельных повреждений глаз [7]. В большинстве случаев они сопровождаются механическими повреждениями и ожогами роговицы, которые могут привести к значительному снижению или потере зрительных функций. При этом ожоги глаз у военнослужащих составляют около 38,4 % всех травм, а в 40 % случаев пострадавшие становятся инвалидами. Патологические процессы, развивающиеся при повреждениях глазной поверхности и нарушении регенераторных процессов эпителия, многообразны, а зрительная реабилитация таких пострадавших до настоящего времени нередко по-прежнему вызывает серьёзные проблемы.

Поддержание нормального эпителиального покрова роговицы в течение жизни и его регенерация при повреждениях осуществляются за счёт базальных клеток эпителия, расположенных в складках палисада Vogt роговичной части лимба. Эти клетки являются стволовыми клетками эпителия роговичного фенотипа (лимбальные эпителиальные стволовые клетки — ЛЭСК). В результате асимметричного деления ЛЭСК образуются базальные эпителиоциты роговой оболочки — транзиторные амплифицирующие клетки (ТА-клетки). Последние смещаются по базальной мембране центрипетально и дифференцируются в супрабазальные поверхностные клетки, обеспечивая восполнение нормального эпителиального покрова роговицы. ЛЭСК служат также естественным барьером для нарастания на роговицу конъюнктивального эпителия.

Полная гибель ЛЭСК (в результате травм, ожогов и заболеваний) клинически проявляется состоянием, получившим название лимбальной недостаточности (ЛН). При этом ввиду отсутствия источника регенерации роговичного эпителия на роговицу начинает медленно нарастать эпителий конъюнктивы с врастанием в строму поверхностных и глубоких сосудов (конъюнктивализация). Это сопровождается хроническим воспалением глазной поверхности, рецидивирующими и персистирующими эрозиями, изъязвлением и процессами рубцевания в роговице с формированием тотального фиброваскулярного паннуса (сосудистого бельма). Зрительная реабилитация пациентов с такими бельмами посредством оптической кератопластики обречена на рецидив. Она возможна только после восстановления нормального эпителиального покрова роговицы посредством пересадки ЛЭСК (лимбальной трансплантации — ЛТ).

В настоящее время существует ряд методов, способствующих восстановлению или поддержке (при частичной ЛН) популяции ЛЭСК:

- аутолимбальная трансплантация (пересадка участка лимба, взятого с контралатерального глаза при одностороннем поражении);
- аллолимбальная трансплантация (пересадка участка лимба, взятого у доноров);
- пересадка культивированных *ex vivo* лимбальных стволовых эпителиальных клеток.

В случае тотальной ЛН необходима пересадка ауто- или аллогенных ЛЭСК. Донорский материал может быть взят со здорового контралатерального глаза (лимбальный аутографт), от донора-родственника (лимбальный аллографт), или это может быть кадаверный кератолимбальный аллографт. Однако перечисленные методы не лишены недостатков. Так, при использовании в качестве донора здорового контралатерального глаза пациента или глаза родственника существует риск вызвать ятрогенную ЛН на этом глазу. В случае же применения кадаверного материала потенциал ткани всегда понижен и забор должен осуществляться в ранние сроки после смерти донора, что сопряжено с определёнными сложностями.

В последние годы офтальмологами изучается возможность применения в клинике ЛЭСК, культивированных *ex vivo*, что даёт возможность избежать вышеуказанных недостатков. Эффективность использования данной технологии, по данным литературы, составляет в среднем 75 % [11, 35]. Технология позволяет на основании забора минимального биоптата лимбальной ткани (2,0 × 1,0 мм) получать необходимое для трансплантации количество культивированных на специальных тканевых носителях (амниотическая мембрана, гидрогелевая матрица и т. д.) ЛЭСК.

В вопросе выбора носителя для культивирования *ex vivo* и трансплантации ЛЭСК в настоящее время остаётся немало нерешённых задач. Самым распространённым в мире носителем является амниотическая мембрана. Однако, несмотря на наличие таких важных свойств, как противовоспалительный, антиангиогенный, антибактериальный и противовирусный эффекты, низкая иммуногенность, стимуляция клеточного роста, возможность выбора оптимального для той или иной глазной поверхности размера и формы, амниотическая мембрана несёт в себе такие недостатки, как:

- риск передачи гемотрансмиссивных заболеваний от донора реципиенту;
- вариативное качество самого материала;
- неполная прозрачность;
- возможный недостаток донорского материала;
- невозможность создания материала с заданными параметрами.

Вышеуказанные недостатки мотивируют поиск оптимальной матрицы, имеющей биологическое или синтетическое происхождение. Идеальная матрица для восстановления повреждённой глазной поверхности должна:

- быть прозрачной;
- быть биосовместимой;
- быть биодеградирующей;
- быть нетоксичной;
- быть прочной;
- быть удобной в использовании;
- иметь возможность для роста на ней клеток;
- иметь возможность положительного изменения свойств путём добавления дополнительных соединений;
- иметь низкие показатели сжатия при исследовании *in vitro* и *in vivo*;
- иметь невысокую стоимость производства.

Сейчас ведутся исследования с материалами природного и синтетического происхождения, ко-

торые могут быть потенциальными кандидатами для использования в качестве матрицы с целью культивирования ЛЭСК:

- коллаген;
- фибрин;
- хитозан с желатином;
- фиброин шёлка;
- кератин;
- контактные линзы;
- полилактид-ко-гликолид;
- поликапролактон.

Ниже кратко охарактеризуем их свойства и перспективы использования в реконструктивной хирургии роговичной поверхности.

**Коллаген.** Коллаген представляет собой основной компонент внеклеточного матрикса, составляющий 70 % сухого вещества роговицы. Это белок третичной структуры, способный, при изготовлении на его основе гидрогеля, формировать сеть взаимно перекрещивающихся нитей, что может быть использовано как матричный каркас для миграции клеточных элементов и восстановления структуры определённой ткани [10]. Впервые идею использования коллагена для культивации клеток роговицы развил в своей работе Geggel et al. [22]. Было показано, что коллаген, полученный ферментативным путём из кожи быка, может быть использован в качестве носителя для культивации эпителиальных клеток роговицы. Через 13 дней наблюдения было обнаружено, что эпителиоциты хорошо адгезировались к коллагеновому носителю и сформировали трёх-пятислойный пласт клеток. Коллаген животного происхождения недорогой и достаточно простой в получении материал для создания клеточных носителей [28]. Однако существующие сомнения относительно чистоты коллагена, полученного от животных, и развития возможных реакций иммунного ответа ориентируют многих исследователей на использование рекомбинантного коллагена I и III типов, создаваемого с использованием методов генной инженерии [21, 27]. Данный тип коллагена считается абсолютно безопасным и полностью идентичным природному коллагену [31]. Единственный его недостаток — высокая стоимость.

Несмотря на такие положительные свойства коллагена, как прозрачность, биосовместимость и доступность, он обладает низкой механической устойчивостью за счёт содержания большого количества воды. Одним из способов улучшения механических свойств коллагена является удаление определённого количества воды, содержащейся

в коллагене, путём компрессии. В исследовании Mi et al. [32] было доказано, что сжатый коллаген обладает более высокой механической устойчивостью по сравнению с обычным коллагеном. Культивируемые же на сжатом коллагене ЛЭСК распределяются на поверхности носителя более равномерно и имеют более гомогенную морфологию, чем ЛЭСК, культивируемые на традиционном коллагене.

**Фибрин.** Фибрин представляет собой белок, получаемый из фибриногена путём добавления к нему тромбина. В настоящее время данный субстрат изучен в качестве носителя для культивирования и трансплантации ЛЭСК как в исследованиях *in vitro* [33], так и *in vivo* на экспериментальных животных [38] и в клинической практике [34]. По результатам исследования Rama [34], использование фибринового геля с культивированными на нём ЛЭСК для лечения постожоговой ЛН имеет клиническую эффективность 76,6 %. Вероятность же достижения полной эпителизации роговицы после проведённого лечения напрямую зависела от содержания в культивируемой культуре клеток транскрипционного фактора  $\Delta Np63\alpha$ , специфичного для ЛЭСК. При концентрации  $\Delta Np63\alpha$  в культуре клеток  $> 3\%$  полная эпителизация достигалась в 78 % случаев. При содержании  $\Delta Np63\alpha$  менее 3 % полная эпителизация наблюдалась лишь в 11 % случаев [17].

Главным недостатком использования фибрина в качестве носителя для трансплантации культивированных ЛЭСК является риск переноса трансмиссивных заболеваний [21].

**Контактные линзы.** В исследованиях Di Girolamo et al. [19, 20] и A. Gore et al. [23] была изучена возможность использования силикон-гидрогелевых контактных линз в качестве носителя для ЛЭСК. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было отмечено, что ЛЭСК не только могут адгезироваться на поверхности линзы с последующей пролиферацией и формированием слоёв клеток, но и мигрировать на поверхность роговицы. Более того, возможность использования силикон-гидрогелевых контактных линз в качестве носителя для ЛЭСК была исследована и в клинике в трёх случаях с длительно сохраняющейся ЛН. Во всех случаях был достигнут положительный результат в виде уменьшения симптомов ЛН и улучшения остроты зрения [19].

Имея такие преимущества, как доступность, простота использования, прозрачность, «бандажная» функция и механическая устойчивость,

контактные линзы в качестве носителя для ЛЭСК не лишены недостатков. При удалении контактной линзы часть культивированных на ней клеток остаётся на её поверхности, чего лишены биodeградирующие варианты носителей ЛЭСК. Имеющийся незначительный опыт исследований контактных линз в качестве матрицы для культивации клеток не позволяет с уверенностью сказать об отсутствии ещё каких-либо недостатков, а сама методика требует более детального изучения.

**Хитозан с желатином.** Хитозан — продукт деацетилирования хитина, содержащегося в панцире ракообразных [3]. Данный материал в настоящее время активно изучается в различных областях науки, в том числе в регенеративной медицине и офтальмологии. Уже исследована возможность использования хитозана в различных агрегатных состояниях для создания транспортных систем доставки лекарственных препаратов и веществ в различные структуры глазного яблока [29], препаратов для хирургического лечения отслойки сетчатки [2, 41] и роговицы [8]. Такие природные свойства хитозана, как биосовместимость и биodeградация, низкая токсичность, механическая устойчивость, доступность, позволяют рассматривать его в качестве потенциального материала в создании матрицы для культивации различных типов клеток, в том числе ЛЭСК. Плёнки, приготовленные из чистого хитозана, чрезмерно жёсткие и упругие, поэтому наиболее подходящим материалом для использования на глазной поверхности являются композиты из хитозана с добавлением желатина. Данное сочетание придаёт тканеинженерной конструкции более эластичную форму с сохранением механической устойчивости. De la Mata et al. [15] описали возможность культивации ЛЭСК на хитозан-желатиновом геле в пропорции 20 : 80, подвергнутом процедуре кросс-линкинга. Q. Tang et al. [39] модифицировали данный тип матрицы путём добавления рекомбинантного человеческого стромального фактора-1-альфа (SDF-1-alpha). Данный фактор может оказывать активное влияние на процессы регенерации эпителия роговицы за счёт ускорения миграции ЛЭСК и мезенхимальных клеток стромы роговицы в зону дефекта и активизации процессов пролиферации данных типов стволовых клеток [13, 39]. По данным исследователей, в эксперименте на кроликах при создании щелочного ожога роговицы с последующей трансплантацией хитозан-желатиновой матрицы, содержащей SDF-1-alpha, полная эпителизация роговицы наблюдалась уже на 10-е сутки.

**Фиброин шёлка.** Фиброин шёлка уже в течение более 30 лет активно применяется в различных областях регенеративной медицины [1]. Из этого природного субстрата изготавливают шовный материал, искусственные сосуды, а также с его помощью восстанавливают костную и хрящевую ткань, зубы и т. п. [26, 29]. Возможности данного материала позволяют изготовить из него и тонкие, эластичные, механически устойчивые, эластичные и прозрачные плёнки, которые могут быть использованы в качестве биологической матрицы для культивации ЛЭСК с целью восстановления повреждённой глазной поверхности. Niga et al. [24] с успехом применили созданные ими плёнки из фиброина шёлка для культивации ЛЭСК, а также доказали, что лимбальные клетки, культивированные в термостате в условиях гипоксии, обладают большей колониеобразующей эффективностью и пролиферативной активностью с сохранением признаков стволовости, чем ЛЭСК, культивированные в условиях нормоксии. В дальнейшем Niga et al. [25] исследовали биосовместимость и биодеградацию плёнок из фиброина шёлка путём помещения его в строму роговицы. Данный материал не вызывал каких-либо воспалительных реакций в тканях роговицы и имел склонность к биодеградации. Недостатком данного материала является высокая стоимость по сравнению с синтетическими матрицами, однако имеющиеся положительные свойства фиброина шёлка могут мотивировать к дальнейшему его изучению в условиях *in vivo* [21].

**Кератин.** Кератин относится к группе белков, присутствующих в большом количестве в ногтях, волосах, копытах и перьях позвоночных. Наличие большого количества дисульфидных связей и гидрофобность кератинового ряда белков придаёт им особую механическую прочность. Данные свойства, а также трудоёмкость изготовления этого материала не позволили кератину получить такое распространение в регенеративной медицине, как коллагену [38]. Однако благодаря исследованиям и разработкам последних лет стало возможным использовать нативный или модифицированный кератин в качестве скаффолда для культивации клеток и разработки тканеинженерных конструкций [42]. S. Reichl et al [38] в 2011 г. впервые удалось создать кератиновую плёнку, превосходящую по прозрачности и механической устойчивости амниотическую мембрану. Адгезия и пролиферация клеток эпителия роговицы на полученном носителе была сравнима с показателями амниона. Однако при трансплантации кератиновых плёнок на глазную

поверхность наблюдалось прорезывание швов, что связано с ограниченной эластичностью данного материала по сравнению с амнионом [12].

**Полилактид-ко-гликолид.** Синтетические скаффолды относятся к классу носителей, получаемых из искусственных материалов. Данный факт абсолютно исключает риск передачи трансмиссивных заболеваний, чего, к сожалению, не лишены такие носители природного происхождения, как амнион и фибрин, в результате сокращаются расходы на технологию производства, а также решается проблема с недостатком в донорском материале. Единственным преимуществом материалов природного происхождения может быть более лучшая биосовместимость по сравнению с искусственными материалами, однако современные технологии позволяют придать синтетическим материалам и это качество. К группе данных материалов относится полилактид-ко-гликолид, являющийся кополимером полилактида и полигликолида. В исследовании P. Deshpande et al. [16] авторам удалось создать прозрачную, эластичную, механически устойчивую матрицу из полилактид-ко-гликолида с одинаковым соотношением полимеров (50 : 50). Также была оценена возможность культивирования ЛЭСК на поверхности данной матрицы. После двухнедельной культивации клетки способны формировать многослойный пласт клеток. Результаты иммуногистохимических исследований позволяют утверждать, что культивируемые на полилактид-ко-гликолиде ЛЭСК сохраняют свой фенотип и признаки стволовости [17].

**Поликапролактон.** Данный материал достаточно распространён в регенеративной медицине за счёт высокой биосовместимости и используется для восстановления кожи [14], костной ткани [40]. Изучаются также и возможности применения поликапролактона в офтальмологической практике для культивирования клеток-предшественников конъюнктивы [9] и сетчатки [35]. Положительными свойствами матриц из поликапролактона являются прозрачность, механическая устойчивость, биодеградация и биосовместимость, нетоксичность для клеточного материала. Поликапролактон также отличается высокими показателями отношения объёма к площади поверхности и пористости. Преимущество данного материала в сравнении со многими биосинтетическими материалами заключается в его высокой пластичности при изготовлении, то есть существует возможность задать матрице необходимые параметры и дополнительные свойства, необходимые для решения конкретной задачи.

Таблица 1

Достоинства и недостатки различных материалов для культивирования и трансплантации лимбальных эпителиальных стволовых клеток

Table 1

Advantages and disadvantages of different carriers for cultivation and transplantation limbal epithelial stem cells

Носитель	Достоинства	Недостатки
Амниотическая мембрана	Противовоспалительные и антиангиогенные свойства, хорошая эластичность	Низкая прозрачность, риск передачи трансмиссивных заболеваний, непостоянное качество материала, ограниченная механическая устойчивость
Коллаген	Хорошая прозрачность и биосовместимость, доступность	Ограниченная механическая устойчивость
Фибрин	Хорошая прозрачность, хорошие репаративные свойства и биодegradация	Риск передачи трансмиссивных заболеваний
Контактные линзы (силикон-гидрогелевые)	Хорошая прозрачность, доступность, свойство «повязки»	Неполная миграция клеток с поверхности линзы на роговицу
Хитозан-желатин	Биосовместимость, механическая устойчивость, хорошие репаративные свойства	Ограниченная эластичность
Фиброин шёлка	Хорошая прозрачность и биосовместимость, механическая устойчивость	Высокая стоимость
Кератин	Хорошая прозрачность, высокая механическая устойчивость, доступность	Ограниченная эластичность
Поликапролактон	Хорошая прозрачность и биосовместимость, механическая устойчивость	—
Полилактид-ко-гликолидовый скаффолд	Хорошая прозрачность, биосовместимость и биодegradация, механическая устойчивость	Снижение механической устойчивости после культивирования клеток

S. Sharma et al. [37] создавали скаффолд из нановолокон поликапролактона методом электро-спиннинга и исследовали возможность культивации на нём ЛЭСК. По данным электронной микроскопии ЛЭСК, культивируемые на поликапролактоне, формировали пласт здоровых жизнеспособных клеток, прочно прикреплённых к поверхности нановолокон матрицы и способных сохранять свой фенотип. Было отмечено, что нановолокна поликапролактона создавали достаточно благоприятные условия для роста и жизнеспособности клеток за счёт оптимального обмена питательных веществ и газов даже при условии нахождения клеток в толще носителя. По результатам иммуногистохимических исследований и ПЦР, ЛЭСК, культивируемые на поликапролактоне, сохраняли высокую пролиферативную активность, свой фенотип, а главное, признаки стволовости. Полученные данные позволили авторам аргументировать гипотезу о том, что данный поликапролактон можно рассматривать в качестве возможной альтернативы существующим традиционным носителям для культивации ЛЭСК (амнион, фибрин) с перспективой дальнейшего исследования *in vivo*.

В таблице 1 приведено сравнение различных матриц для культивирования и трансплантации лимбальных клеток [21].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящее время самым распространённым биологическим материалом, используемым в качестве носителя для культивации и трансплантации ЛЭСК, является амниотическая мембрана. Однако вышеперечисленные недостатки диктуют необходимость поиска носителей иного происхождения.

Из всех упомянутых выше носителей лишь контактные линзы (3 глаза) [18] и фибриновые плёнки (131 глаз) [17] прошли клиническую апробацию. На основании полученных данных плёнки из фибрина могут быть рассмотрены как клинически доказанная альтернатива АМ для восстановления глазной поверхности. Однако фибрин получают из плазмы крови, что сопряжено с риском развития иммунологического конфликта и переноса трансмиссивных заболеваний. Результаты применения контактных линз с ЛЭСК, по данным авторов [18], тоже обнадёживают благодаря возможности восстановления

целостности эпителия роговицы, однако, ввиду незначительного количества лечившихся пациентов, данная методика нуждается в дальнейшем изучении. Использование в качестве носителя для ЛЭСК коллагенового скаффолда уже успешно исследовано в эксперименте на животных и требует соответствующих клинических исследований [27]. Изучение остальных носителей (желатин-хитозан, фиброин шёлка, плёнки из кератина, полилактид-ко-гликолидовый скаффолд, поликапролактон) ограничено опытами *in vitro*, поэтому необходимы дальнейшие экспериментальные исследования на животных.

#### Источник финансирования и конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 14-50-00068.

#### Вклад авторов:

А.Н. Куликов, С.В. Чурашов, М.И. Блинова, О.И. Александрова — концепция и дизайн обзора.

В.Ф. Черныш, В.В. Карпович, Ю.И. Хорольская — анализ полученных данных, написание текста.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агапов И.И., Мойсенович М.М., Васильева Т.В., и др. Биодegradуемые матрицы из регенерированного шёлка *bombix mori* // Доклады Академии наук. — 2010. — Т. 433. — № 5. — С. 1–4. [Agapov II, Moysenovich MM, Vasil'eva TV, et al. *Doklady Akademii nauk*. 2010;433(5):1-4. (In Russ.)]
- Ботабекова Т.К., Канафьянова Э.Г., Жургумбаева Г.К., и др. Отечественный витреосинеретик VITRENAL и микроинвазивная хирургия в лечении пролиферативной диабетической ретинопатии, осложнённой тракционной отслойкой сетчатки // РМЖ. Клиническая офтальмология. — 2011. — № 3. — С. 94–95. [Botabekova TK, Kanaf'yanova EG, Zhurgumbaeva GK, et al. *Otechestvennyi vitreosineretik VITRENAL i mikroinvazivnaya khirurgiya v lechenii proliferativnoi diabeticheskoi retinopatii, oslozhennoi traksionnoi otsloikoii setchatki*. RMZh. *Klinicheskaya oftal'mologiya*. 2011;(3):94-95. (In Russ.)]
- Гальбрайх Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // Соросовский образовательный журнал. — 2001. — Т. 7. — № 1. — С. 51–56. [Gal'braikh LS. *Khitin i khitozan: stroenie, svoistva, primeneniye*. *Sorosovskii obrazovatel'nyi zhurnal*. 2001;7(1):51-56. (In Russ.)]
- Каспаров А.А. Лечение важнейших заболеваний роговицы / Материалы VIII съезда офтальмологов России. Москва, 2005 г. — М., 2005. — С. 450–451. [Kasparov AA. *Lechenie vazhneishikh zabolevaniy rogovitsy*. (Conference proceedings) *Materialy VIII s'ezda oftal'mologov Rossii*. Moskva, 2005. Moscow; 2005. P. 450-451. (In Russ.)]
- Либман Е.С., Шахова Е.В. Слепота и инвалидность по зрению в населении России / Съезд офтальмологов России: тезисы докладов. — М., 2005. — Т. 8. — С. 78–79. [Libman ES, Shakhova EV. *Slepota i invalidnost' po zreniyu v naselenii Rossii*. (Conference proceedings) *S'ezd oftal'mologov Rossii*. Moscow; 2005. Vol. 8. P. 78-79. (In Russ.)]
- Майчук Ю.Ф. Основные тенденции в эпидемиологии и терапии глазных инфекций / Тезисы VIII съезда офтальмологов России. Июнь 01–04, 2005; Москва. — М.: Межотраслевой научно-технический комплекс Микрохирургия глаза им. академика С.Н. Фёдорова, 2005. — С. 92–93. [Maichuk YuF. *Osnovnye tendentsii v epidemiologii i terapii glaznykh infektsii*. (Conference proceedings) *VIII s'ezd oftal'mologov Rossii*; 2005 June 01-04; Moscow. Moscow: *Mezhotraslevoy nauchno-tekhnicheskii kompleks Mikrokhirurgiya glaza im. akademika S.N. Fedorova*; 2005. P. 92-93. (In Russ.)]
- Нечаев Э.А. Взрывные поражения: Руководство для врачей и студентов / Под ред. чл.-корр. РАМН проф. Э.А. Нечаева. — СПб.: Фолиант, 2002. — 656 с. [Nechaev EA. *Vzryvnye porazheniya: Rukovodstvo dlya vrachei i studentov*. Ed by E.A. Nechaev. Saint Petersburg: Foliant; 2002. 656 p. (In Russ.)]
- Халимов А.Р. Офтальмологический раствор для кросс-линкинга коллагена роговицы с рибофлавином и хитозаном // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2012. — № 12 (148). — С. 223–224. [Khalimov AR. *Ophthalmological solution for corneal collagen crosslinking with riboflavin and chitosan*. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2012;(12):223-224. (In Russ.)]
- Ang LP, Cheng ZY, Beuerman RW, et al. The development of a serum-free derived bioengineered conjunctival epithelial equivalent using an ultrathin poly ( $\epsilon$ -caprolactone) membrane substrate. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:105-12. doi: 10.1167/iovs.05-0512.
- Ashkenas J, Muschler J, Bissell MJ. The Extracellular Matrix in Epithelial Biology: Shared Molecules and Common Themes in Distant Phyla. *Developmental Biology*. 1996;180(2):10.1006/dbio.1996.0317. doi: 10.1006/dbio.1996.0317.
- Basu S, Ali H, Sangwan VS. Clinical outcomes of repeat autologous cultivated limbal epithelial transplantation for ocular surface burns. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(4):643-50. doi: 10.1016/j.ajo.2011.09.016.
- Borrelli M, Reichl S, Feng Y, et al. *In vitro* characterization and *ex vivo* surgical evaluation of human hair keratin films in ocular surface reconstruction after sterilization processing. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(1):221-30. doi: 10.1007/s10856-012-4774-4.

13. Bourcier T, Berbar T, Paquet S, et al. Characterization and functionality of CXCR4 chemokine receptor and SDF-1 in human corneal fibroblasts. *Mol Vis*. 2003;9:96-102.
14. Dai NT, Williamson MR, Khammo N, et al. Composite cell support membranes based on collagen and polycaprolactone for tissue engineering of skin. *Biomaterials*. 2004;25:4263-4271. doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.11.022.
15. de la Mata A, Nieto-Miguel T, López-Paniagua, et al. Chitosan-gelatin biopolymers as carrier substrata for limbal epithelial stem cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2013 Dec;24(12):2819-29. doi: 10.1007/s10856-013-5013-3.
16. Deshpande P, McKean R, Blackwood KA, et al. Using poly(lactide-coglycolide) electrospun scaffolds to deliver cultured epithelial cells to the cornea. *Regen Med*. 2010;5(3):395-401. doi: 10.2217/rme.10.16.
17. Deshpande P, Ramachandran C, Sefat F, et al. Simplifying corneal surface regeneration using a biodegradable synthetic membrane and limbal tissue explants. *Biomaterials*. 2013;34(21):5088-106. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.064.
18. Di Girolamo N, Bosch M, Zamora K, et al. A contact lens-based technique for expansion and transplantation of autologous epithelial progenitors for ocular surface reconstruction. *Transplantation*. 2009;87(10):1571-1578. doi: 10.1097/TP.0b013e3181a4bbf2.
19. Di Girolamo N, Bosch M, Zamora K, et al. A contact lens-based technique for expansion and transplantation of autologous epithelial progenitors for ocular surface reconstruction. *Transplantation*. 2009;87:1571-1578.
20. Girolamo ND, Chui J, Wakefield D, Coroneo MT. Cultured human ocular surface epithelium on therapeutic contact lenses. *The British Journal of Ophthalmology*. 2007;91(4):459-464. doi: 10.1136/bjo.2006.103895.
21. Feng Y, Borrelli M, Reichl S, et al. Review of alternative carrier materials for ocular surface reconstruction. *Curr Eye Res*. 2014;39(6):541-52. doi: 10.3109/02713683.2013.853803.
22. Geggel HS, Friend J, Thoft RA. Collagen gel for ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1985;26(6):901-905.
23. Gore A, Horwitz V, Gutman H, et al. Cultivation and characterization of limbal epithelial stem cells on contact lenses with a feeder layer: toward the treatment of limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2014;33(1):65-71. doi: 10.1097/ICO.0000000000000002.
24. Higa K, Shimazaki J. Recent advances in cultivated epithelial transplantation. *Cornea*. 2008;27(Suppl.1):41-7. doi: 10.1097/ICO.0b013e31817f358e.
25. Higa K, Takeshima N, Moro F, et al. Porous silk fibroin film as a transparent carrier for cultivated corneal epithelial sheets. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2011;22(17):2261-76. doi: 10.1163/092050610X538218.
26. Kim KH, Jeong L, Park HN, et al. Biological efficacy of silk fibroin nanofiber membranes for guided bone regeneration. *J Biotechnol*. 2005;120(3):327-339. doi: 10.1016/j.jbiotec.2005.06.033.
27. Liu W, Merrett K, Griffith M, et al. Recombinant human collagen for tissue engineered corneal substitutes. *Biomaterials*. 2008;29(9):1147-1158. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.11.011.
28. Liu Y, Griffith M, Watsky MA, et al. Properties of porcine and recombinant human collagen matrices for optically clear tissue engineering applications. *Biomacromolecules*. 2006;7(6):1819-28. doi: 10.1021/bm060160o.
29. López-León T, Carvalho EL, Seijo B, et al. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior. *J Colloid Interface Sci*. 2005;283(2):344-51. doi: 10.1016/j.jcis.2004.08.186.
30. Lovett ML, Cannizzaro C, Daheron L, et al. Silk fibroin microtubes for blood vessel engineering. *Biomaterials*. 2007;28(35):5271-9. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.008.
31. Lynn AK, Yannas IV, Bonfield W. Antigenicity and immunogenicity of collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004;71(2):343-53. Review. doi: 10.1002/jbm.b.30096.
32. Mi S, Chen B, Wright B, Connon CJ. Plastic compression of a collagen gel forms a much improved scaffold for ocular surface tissue engineering over conventional collagen gels. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(2):447-453. doi: 10.1002/jbm.a.32861.
33. Pellegrini G, Ranno R, Stracuzzi G, et al. The control of epidermal stem cells (holoclones) in the treatment of massive full-thickness burns with autologous keratinocytes cultured on fibrin. *Transplantation*. 1999;68(6):868-79. doi.org/10.1097/00007890-199909270-00021.
34. Rama P, Matuska S, Paganoni G, et al. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. 2010;363(2):147-155. doi: 10.1056/NEJMoa0905955.
35. Redenti S, Tao S, Yang J, et al. Retinal tissue engineering using mouse retinal progenitor cells and a novel biodegradable, thin-film poly (ε-caprolactone) nanowire scaffold. *J Ocul Biol Dis Infor*. 2008;1(1):19-29. doi: 10.1007/s12177-008-9005-3.
36. Reichl S, Borrelli M, Geerling G. Keratin films for ocular surface reconstruction. *Biomaterials*. 2011 May;32(13):3375-86. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.052.
37. Sharma S, Mohanty S, Gupta D, et al. Cellular response of limbal epithelial cells on electrospun poly-ε-caprolactone nanofibrous scaffolds for ocular surface bioengineering: a preliminary *in vitro* study. *Molecular Vision*. 2011;17:2898-2910.
38. Talbot M, Carrier P, Giasson CJ, et al. Autologous transplantation of rabbit limbal epithelia cultured on fibrin gels for ocular surface reconstruction. *Mol Vis*. 2006 Feb 1;12:65-75.
39. Tang Q, Luo C, Lu B, et al. Thermosensitive chitosan-based hydrogels releasing stromal cell derived factor-1 alpha recruit MSC for corneal epithelium regeneration. *Acta Biomater*. 2017 Oct 1;61:101-113. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.001.
40. Williams JM, Adewunmi A, Schek RM, et al. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials*. 2005;26(23):4817-4827. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.11.057.

41. Xu T, Yang Y, Yu Y. Efficacy, safety, and biodegradation of a degradable scleral buckle of chitosan-gelatin polymer in rabbits. *Retina*. 2013;33(5):1062-9. doi: 10.1097/IAE.0b013e3182733a64.
42. Yamauchi K, Maniwa M, Mori T. Cultivation of fibroblast cells on keratincoated substrata. *J Biomater Sci Polym Ed*. 1998;9(3):259-70. doi: 10.1163/156856298x00640.

#### Сведения об авторах

**Алексей Николаевич Куликов** — д-р мед. наук, доцент, начальник кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Сергей Викторович Чурашов** — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Валерий Фёдорович Черныш** — канд. мед. наук, кафедра офтальмологии; заслуженный врач РСФСР. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Миральда Ивановна Блинова** — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела клеточных биотехнологий. ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург. E-mail: mira.blinova@mail.ru.

**Ольга Игоревна Александрова** — ассистент отдела клеточных биотехнологий. ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург. E-mail: elga.aleks@gmail.com.

**Вадим Валерьевич Карпович** — клинический ординатор кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: yalovelife@mail.ru.

**Юлия Игоревна Хорольская** — аспирант отдела клеточных биотехнологий. ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург. E-mail: juliya\_khorolskaya@mail.ru.

#### Information about the authors

**Alexey N. Kulikov** — MD, PhD, DMedSc, Professor, Head of the Department. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Sergey V. Churashov** — MD, PhD, DMedSc, Assistant Professor. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Valeriy F. Chernysh** — MD, PhD, DMedSc, Assistant professor, Honoured Doctor. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Miralda I. Blinova** — PhD, Candidate of Biological Science, Group leader, Group of Cells Biotechnology. Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia. E-mail: mira.blinova@mail.ru.

**Olga I. Alexandrova** — Assistant of Group of Cells Biotechnology. Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia. E-mail: elga.aleks@gmail.com.

**Vadim V. Karpovich** — Resident. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: yalovelife@mail.ru.

**Yulia I. Khorolskaya** — PhD Student of Group of Cells Biotechnology. Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia. E-mail: juliya\_khorolskaya@mail.ru.