

УДК 617.735-073.5

# Локальное субретинальное введение ксеногенных стволовых клеток, меченных магнитными частицами, в эксперименте

Ю.А. Белый<sup>1</sup>, А.В. Терещенко<sup>1</sup>, С.А. Миргородская<sup>3</sup>, А.А. Темнов<sup>2</sup>, А.Д. Семенов<sup>3</sup>, А.В. Ревущин<sup>4</sup>, Г.В. Павлова<sup>4</sup>, Н.Н. Куст<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России;

<sup>2</sup> ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва;

<sup>3</sup> ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup> ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва

## РЕФЕРАТ

**Цель.** Разработать методику локального субретинального введения ксеногенных стволовых клеток, меченных магнитными частицами, и экспериментально обосновать ее эффективность.

**Материал и методы.** В работе использовалась линия стволовых клеток HEK-293 GFP, меченная магнитными частицами. Исследование проведено на 84 глазах 42 кроликов породы шиншилла в возрасте 6 мес. весом от 2,5 до 3,5 кг. Все правые глаза были опытными (42 глаза), левые (42 глаза) – контрольными. В опытной группе к склере подшивали комплекс полимерного эластичного магнитного имплантата (ПЭМИ) с лазерным зондом, производили срединную витрэктомию и с помощью специально разработанного дозатора вводили HEK-293 GFP под сетчатку. В группе контроля ПЭМИ с лазерным зондом не фиксировали. В сроки 1, 3, 5, 7, 14 суток и 1 мес. производили биомикроскопию, офтальмоскопию глазного дна с фотографированием, ультразвуковое офтальмосканирование, оптическую когерентную томографию (ОКТ), компьютерную томографию (КТ), морфологическое исследование (криогистологические срезы).

**Результаты.** По данным биомикроскопии в сроки наблюдения до 3 суток наблюдалась инъекция сосудов в зоне операции. По данным офтальмоскопии и ультразвукового исследования в 1-е сутки визуализировалась локальная отслойка сетчатки в зоне введения клеток, которая не наблюдалась в дальнейшие сроки наблюдения. По данным КТ подтверждено место расположения ПЭМИ. По данным морфологического исследования доказано, что в опытной группе клетки располагаются в субретинальном пространстве в сроки до 14 суток, а в группе контроля – только до 3 суток.

**Выводы.** Разработанный хирургический способ дает возможность контролировать введение клеток в субретинальное пространство, снижает риск повреждения тканей и выхода клеток в полость стекловидного тела.

Предложенная методика позволяет осуществить фиксацию клеточного материала в месте их локального введения и дает возможность прогнозирования их движения.

**Ключевые слова:** *стволовые клетки, магнитные частицы, субретинальное введение.* ■

**Авторы не имеют финансовых или имущественных интересов в упомянутых материале и методах.**

Офтальмохирургия. – 2014. – № 4. – С. 65-71.

## ABSTRACT

### Local subretinal injection technique of xenogenic stem cells labelled by magnetic particles in experiment

Y.A. Belyy<sup>1</sup>, A.V. Tereshchenko<sup>3</sup>, S.A. Mirgorodskaya<sup>2</sup>, A.A. Temnov<sup>4</sup>, A.D. Semenov<sup>4</sup>, A.V. Revishchin<sup>4</sup>, G.V. Pavlova<sup>4</sup>, N.N. Kust<sup>4</sup>

<sup>1</sup> The Kaluga Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Kaluga;

<sup>2</sup> The N.V. Sklifosovsky Research Institute of Ambulance of the Moscow Health Department, Moscow;

<sup>3</sup> The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution;

<sup>4</sup> The Institute of Gen Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow

**Purpose.** To develop a technique for local subretinal injection of xenogeneic stem cells labeled with magnetic particles and to prove experimentally its effectiveness.

**Material and methods.** We used a line of stem cells HEK-293 GFP, labeled with magnetic particles. The study was made in 84 eyes

of 42 chinchilla rabbits aged 6 months, the weight was from 2.5 to 3.5kg. All right eyes were experimental (42 eyes) and all left eyes (42 eyes) were in the control group. In the experimental group we used original complex of polymer elastic magnetic implant (PEMI) with a laser probe and fixed it to the sclera, then we made a median

vitrectomy and injected HEK-293 GFP under the retina using a specially designed dispenser. In the control group PEMI was not fixed.

We examined animals using biomicroscopy, ophthalmoscopy, ultrasound scanning, optical coherence tomography (OCT), computer tomography (CT), morphological study (cryo-histological sections) 1, 3, 5, 7, 14 days and 1 month after surgery.

**Results.** According to the results of biomicroscopy in observation periods up to 3 days the vascular injection was visualized in the area operation. According to the results of ophthalmoscopy and ultrasound scanning during the first day the local retinal detachment was visualized in the area of local injection of the stem cells, which was not noted in terms of further observations. CT helped us to confirm the localization of PEMI fixation.

Ophthalmosurgery.- 2014.- No. 4.- P. 65-71.

The morphological study results showed that cells were located in the subretinal space up to 14 days in the experimental group, and only up to 3 days in the control group.

**Conclusion.** The developed surgical technique enables to control the injection of cells into the subretinal space, reduces the risk of tissue damage and exit cells in the vitreous space.

The suggested method allows to fix the cellular material in the local place of the injection and enables to predict cells' movement.

**Key words:** stem cells, magnetic particles, subretinal injection. ■

**No author has a financial or proprietary interest in any material or method mentioned.**

Методы клеточной трансплантации в настоящее время открывают широкие возможности возмещения отсутствующих клонов специализированных клеток в поврежденных органах и тканях. Стволовые клетки также способствуют активизации в сохранившихся клетках поврежденного органа собственного резерва регенерации и пролиферации [4, 9].

В экспериментальной офтальмологии, в работах по трансплантации эмбриональных частей сетчатки в сетчатку взрослого млекопитающего было показано, что имплантированная ткань интегрируется с сетчаткой реципиента, и даже могут устанавливаться морфологические контакты с первичными зрительными центрами [8]. Также проводились исследования возможности встраивания стволовых клеток в слои сетчатки и дифференцировки их в фоторецепторы [17, 18]. Было показано, что стволовые клетки, введенные интравитреально, если не погибают в течение нескольких суток после трансплантации, то мигрируют, встраиваются в слои сетчатки и формируют многочисленные отростки, идентичные нормальным аксонам, а в отдельных случаях аксоны введенных клеток прорастают в зрительный нерв и остаются жизнеспособными сроком до 30 дней [10, 20].

Применение стволовых клеток из мезенхимальной ткани является перспективным за счет возможно-

сти получения материала от самого реципиента. В ряде работ было показано, что мезенхимальные стволовые клетки эффективны в лечении повреждений роговицы [12, 14, 16], способствуют повышению выживаемости ганглиозных клеток при глаукоме [11]. Отмечается способность стволовых клеток ингибировать апоптоз клеток сетчатки, уменьшать воспаление, вызванное лазерным воздействием, и ограничивать зону распространения лазерного повреждения [13].

В исследованиях по влиянию стволовых клеток на функциональное состояние и степень выраженности дегенеративных изменений в сетчатке у крыс линии Campbell [6] при токсическом поражении зрительного нерва [3], при лечении частичной атрофии зрительного нерва [5] было показано, что стволовые клетки оказывают выраженное стабилизирующее влияние на процессы дегенерации и на органические изменения: происходило краткосрочное улучшение функций сетчатки, подтвержденное методами ЭРГ. Однако все авторы указывают на кратковременность эффекта в связи с трудностями фиксации клеток в месте введения и их миграцией в другие отделы глаза.

Предложены различные способы введения стволовых клеток при патологии сетчатки и зрительного нерва: внутривенное, субконъюнктивальное, субтеноновое, пара-

бульбарное, интравитреальное, супрахориоидальное, введение в канал, образованный после радиальной оптической нейротомии. Преимущественным является метод субретинального введения в связи с возможностью максимального приближения к месту повреждения. Но, к сожалению, субретинальный способ введения клеток является достаточно травматичным и также не исключает миграции клеток.

В настоящее время популярным направлением становится использование магнитных технологий с целью фиксации стволовых клеток в месте их введения. Впервые с этой целью стволовые клетки с магнитными наночастицами были использованы для доставки стволовых клеток к области печени. Для этого крысам в области печени размещали внешний магнит, который «притягивал» введенные внутривенно клетки, где они в итоге и депонировались [7, 19]. Также стволовые клетки с введенными в них магнитными наночастицами применяли для доставки к месту повреждения сосудов и сердца [15].

По данным литературы в офтальмологии была проведена успешная попытка направленной доставки мезенхимальных стволовых клеток, меченных суперпарамагнитными частицами в область сетчатки, но целью исследования не явилась фиксация трансплантированного материала в зоне введения [21].

**ЦЕЛЬ**

Разработать методику локального субретинального введения ксеногенных стволовых клеток, меченных магнитными частицами, и экспериментально обосновать ее эффективность.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В работе использовалась линия стволовых клеток HEK-293 GFP (human embryonic kidneys), полученная из клеток почки эмбриона человека, выращенная в культуре ткани, и трансфицированная GFP плазмидой.

Для культивирования HEK-293 применялась среда DMEM (ПанЭко, Россия) при добавлении 10% фетальной сыворотки крови (Perbio NuClone, США), L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 4% гентамицина (ПанЭко, Россия). Культура клеток инкубировалась при 37° С в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. Клетки росли на площади 25 см<sup>2</sup> во флаконах («Costar»). По мере нарастания культуры клеток почек эмбриона человека HEK-

293 до концентрации 1,5×10<sup>5</sup> клеток мл<sup>-1</sup> клетки подвергались трансфекции полученными конструкциями: EGFP-N1 («Clontech»). Трансфекция осуществлялась с помощью реагента ExGene 500 (Fermentas, R0511) согласно протоколу. Селекция клонов, несущих встроенную конструкцию, проводилась с помощью реагента гиницитина (G418, Invitrogen # 15750045) в течение десяти дней. После селекции с использованием антибиотика клоны, устойчивые к G418, были использованы для анализа с помощью микроскопа (Olympus). Все колонии были GFP позитивными. Клетки были засеяны на чашки Петри («Corning») в количестве около 300 тыс. Через 24 часа были добавлены магнитные частицы («Invitrogen»; H54700) в соотношении 1:100. Магнитные частицы были предварительно обработаны поверхностно активными веществами для создания условий проникновения в цитоплазму клетки. Комбинация клеток HEK/GFP с магнитными частицами культивировалась 24 часа при температуре 37° С в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. Через 24 часа трансгенная культура по гену GFP с магнитными

частицами была пятикратно промыта раствором Хенкса (ПанЭко, Россия) и обработана раствором трипсина (ПанЭко, Россия). Коллекцию клеток осуществляли в 1,5 мл эппендорф-пробирке фирмы Corning. Клетки были осаждены на центрифуге фирмы Eppendorf в течение 3 минут при 2,5 тыс. оборотов в минуту. По достижении 80-90% конфлюентности к культуре HEK-293 добавляли суспензию магнитных частиц. Клетки инкубировали с частицами 24 ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. После инкубации культуральную среду меняли и клетки 5-кратно отмывали от свободных магнитных частиц раствором Хенкса. Производилась оценка влияния магнитных частиц на пролиферативную активность стволовых клеток костного мозга методом МТТ теста, на функциональную активность стволовых клеток костного мозга и жизнеспособность с использованием флуоресцентных красителей.

Исследование in vivo проведено на 84 глазах 42 кроликов породы шиншилла в возрасте 6 мес. весом от 2,5 до 3,5 кг. Все правые глаза были опытными (42 глаза), а ле-

**Для корреспонденции:**

Белый Юрий Александрович, докт. мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе;

Терещенко Александр Владимирович, докт. мед. наук, директор Калужского филиала ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Адрес: 248007, Калуга, ул. им. Святослава Фёдорова, 5

Тел.: (4842) 505-767. E-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Темнов Андрей Александрович, докт. мед. наук, зав. лабораторией клеточных и физико-химических медицинских технологий

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 129090, Москва, Б. Сухаревская пл., 3

Семенов Александр Дмитриевич, докт. мед. наук, профессор, гл. научн. консультант;

Миргородская Светлана Александровна, аспирант

ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России

Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, 59а

E-mail: info@mntk.ru

Ревещин Александр Владимирович, канд. биол. наук, ст. научн. сотрудник группы нейрогенетики и генетики развития отдела геномики и клеточных технологий;

Павлова Галина Валерьевна, докт. биологических наук, профессор, руководитель группы нейрогенетики и генетики развития отдела геномики и клеточных технологий;

Куст Надежда Николаевна, ст. лаборант-исследователь группы нейрогенетики и генетики развития отдела геномики и клеточных технологий

ФГБУН «Институт биологии гена РАН»

Адрес: 119334, Москва, Вавилова, 34/5

вые (42 глаза) – контрольными. Всем кроликам в оба глаза за 30 минут до операции в конъюнктивальную полость инстиллировали 1-2 капли 1% раствора атропина и 10% мезатона для достижения миодилатозного мидриаза. Всем кроликам в качестве анестезии выполняли общий наркоз, который осуществляли внутримышечным введением 1% раствора гексенала из расчета 0,5 мл на 1 кг веса животного. Общее обезболивание дополняли трехкратной инстилляцией в конъюнктивальную полость 0,4% раствора инокаина. Перед операцией всем кроликам проводили промывание конъюнктивальной полости раствором фурацилина 1:5000. Имобилизация животных производилась путем тугого бинтования.

В опытной группе (42 глаза) после установки блефаростата, отступя 3 мм от лимба, с помощью конъюнктивальных ножниц в нижнем сегменте производился разрез конъюнктивы и теноновой оболочки протяженностью 10 мм. Далее выделяли нижнюю прямую мышцу, брали ее на шов-держалку. Затем в 7-ми мм от лимба подшивали комплекс полимерного эластичного магнитного имплантата (ПЭМИ) толщиной 0,35 мм, диаметром 4 мм, с многополюсным реверсивным намагничиванием с напряженностью магнитного поля 5,0 мТл с лазерным зондом. В 3-х мм от лимба в верхнем и верхне-наружном сегменте устанавливали три порта 25G в проекции плоской части цилиарного тела, фиксировали инфузионную систему, световод, витреотом, производили срединную витректомию. Суспензию объемом 0,02 мл, содержащую стволовые клетки (n~6000), меченные магнитными частицами, вводили субретинально при помощи разработанного устройства для дозирования с иглой 25G, на конце которой расположена изогнутая канюля 41G с заточенным нижним краем. Для предотвращения выхода клеток через ретинотомическое отверстие сразу после их введения витреальную полость заполняли газо-воздушной смесью. По завершению эксперимента лазерный зонд обрезался на уровне полимерного эластичного магнитного имплантата. На склеротомические отверстия и конъюнктив

у накладывался шов Coated Vicryl 8-0 (Ethicon).

В группе контроля (42 глаза) хирургическое введение стволовых клеток субретинально производили без фиксации полимерного эластичного магнитного имплантата с лазерным зондом.

Всем экспериментальным животным в послеоперационном периоде через 3 часа, 1, 3, 5, 7, 10, 14 суток, 1 мес. проводили биомикроскопию, офтальмоскопию глазного дна с фотографированием, ультразвуковое офтальмосканирование, оптическую когерентную томографию (ОКТ), морфологическое исследование (криогистологические срезы) в режиме флюоресценции, оптимальном для зеленого флюоресцентного белка.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам эксперимента *in vitro* было показано, что проникновение магнитных частиц внутрь стволовых клеток незначительно снижает пролиферативную активность (до 5% через 72 часа инкубации). Это говорит о том, что жизнеспособность клеток при данной технологии составляет до 95%.

При добавлении к культуре клеток акридинового желтого красителя соотношение зеленой (ДНК) и красной (РНК) люминесценции было увеличено, что говорит о функциональной активности стволовых клеток, содержащих магнитные частицы.

Также при добавлении акридинового желтого красителя и эпидия бромида к культуре стволовых клеток, содержащих магнитные частицы, соотношение живых клеток к некротическим показало жизнеспособность клеток до 95%.

По результатам клинических исследований при биомикроскопии в сроки наблюдения 1-3 суток в обеих группах отмечалась инъеция глазного яблока в зоне проведения хирургического вмешательства, которая проходила к 5-м суткам. На всех сроках наблюдения швы конъюнктивы и склеротомических отверстий были адаптированы, оптические среды прозрачны, воспалитель-

ных явлений не наблюдалось.

По результатам офтальмоскопии на 1-е сутки во всех глазах опытной и контрольной групп визуализировалась локальная отслойка сетчатки в зоне введения клеток, дефект сетчатки и сосудистой оболочки. К 3-м суткам отслойка сетчатки не визуализировалась, но дефект сетчатки и сосудистой оболочки сохранялся. В дальнейшие сроки наблюдения было сложно визуализировать место локального введения клеток.

По данным ультразвукового исследования во всех глазах опытной и контрольной групп на 1-е сутки визуализировалась локальная отслойка сетчатки высотой 1,0-1,4 мм, которая к 3-м суткам уменьшилась до 0,4-0,7 мм, а к 5-м суткам не визуализировалась. Во все сроки наблюдения в обеих группах визуализировалась мелкодисперсная взвесь в стекловидном теле, а в опытной группе – эхо-тень от магнита.

По данным КТ во всех случаях выявлено расположение ПЭМИ в правом ретробульбарном пространстве в нижне-латеральном квадранте, левые орбиты были интактны, патологических очагов выявлено не было.

По данным флюоресцентной микроскопии криосрезов энуклеированных глазных яблок в 1-е сутки во всех 6-ти глазах опытной группы клетки НЕК-293 GFP располагались в месте их введения под сетчаткой, в стекловидном теле и других структурах глаза обнаружены не были (рис. 1а-в). Во всех глазах группы контроля были обнаружены единичные клетки или группы клеток НЕК-293 GFP в полости стекловидного тела, не связанные с другими структурами глаза (рис. 2а, б).

На 3-и сутки во всех глазах опытной группы клетки НЕК-293 GFP располагались также в месте введения под сетчаткой. При добавлении на срезы красителя бисбензида, окрашивающего ядра живых клеток, доказано, что клетки, находящиеся под сетчаткой, являются живыми (рис. 3а-в). В группе контроля в 3-х глазах из 6-ти в полости стекловидного тела были обнаружены скопления клеток НЕК-293 GFP, не связанные с другими структурами глаза, в остальных 3-х глазах клетки НЕК-293 GFP обнаружены не были (рис. 4а, б).

В сроки наблюдения 5, 7, 10, 14 суток в опытной группе клетки НЕК-293 GFP также располагались в месте их введения, но количество клеток снижалось на каждом последующем сроке наблюдения (рис. 5а-в). К сроку 1 мес. клетки обнаружить не удалось ни в одном случае, но во всех 6-ти глазах наблюдалась присклеральная флюоресценция в зоне

подшивания ПЭМИ (рис. 6). В группе контроля в сроки наблюдения 5, 7, 10, 14 суток и 1 мес. клетки не визуализировались.

### ОБСУЖДЕНИЕ

В предыдущих работах нами была доказана безопасность и эффектив-

ность разработанной технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток с магнитными частицами [1, 2]. В данном исследовании мы использовали клеточную линию НЕК-293 в связи с доступностью материала, легкостью культивирования и возможностью провести трансфекцию GFP-плазмидой, что давало неоспоримое преимуще-

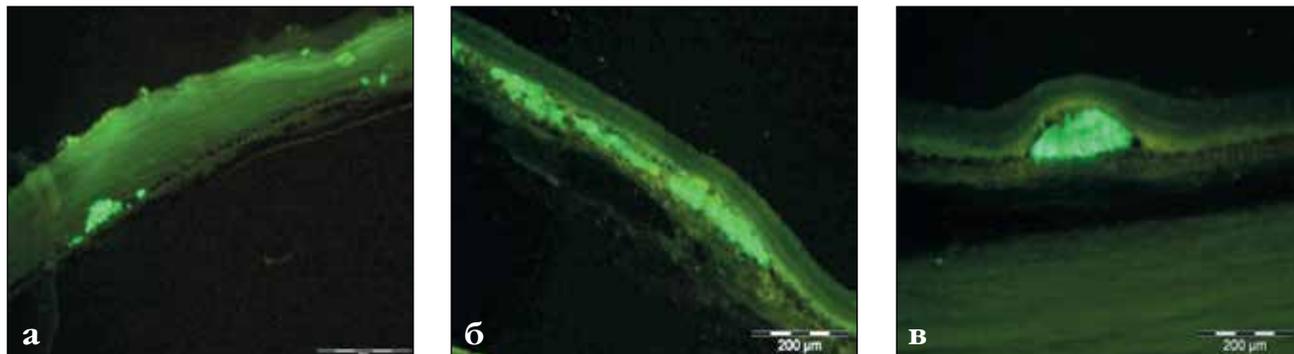


Рис. 1. Микроскопия в режиме флюоресценции. Увеличение x4 (а), x10 (б, в). Опыт. 1 сутки. Клетки НЕК-293 GFP под сетчаткой

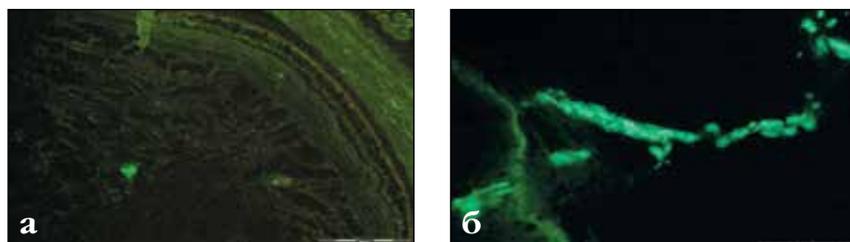


Рис. 2. Микроскопия в режиме флюоресценции. Увеличение x4 (а), x10 (б). Контроль. 1 сутки. Клетки НЕК-293 GFP в полости стекловидного тела

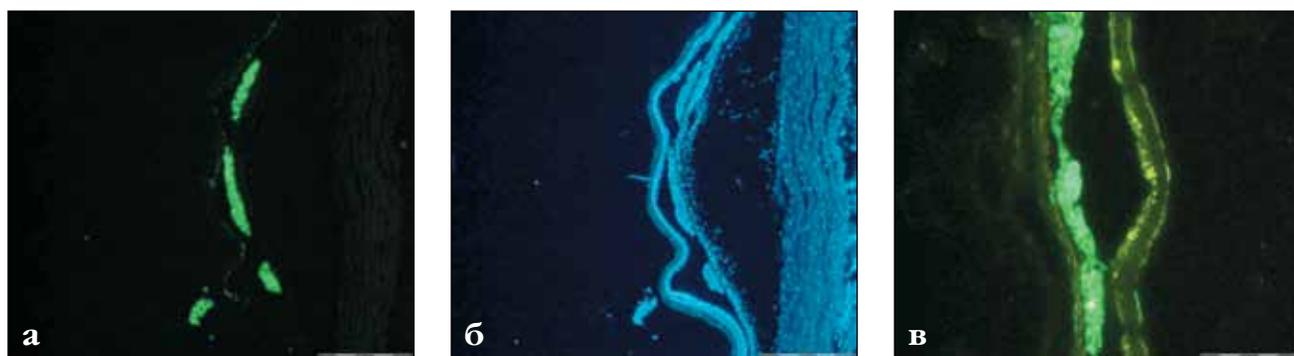


Рис. 3. Микроскопия в режиме флюоресценции. Увеличение x4 (а, б), x10 (в). Опыт. 3 сутки. Окраска среза бисбензими́дом для визуализации ядер живых клеток (б). Группы клеток НЕК-293 GFP, расположенных субретинально

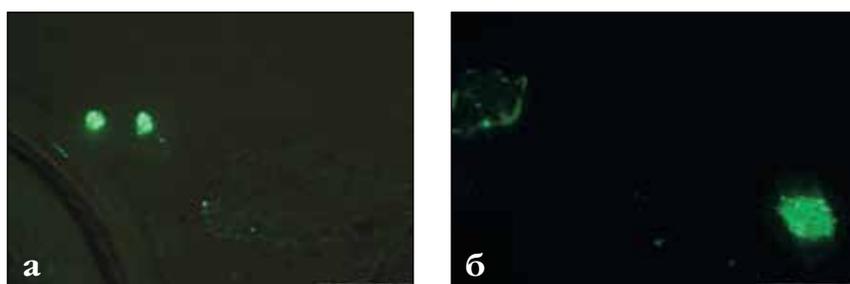
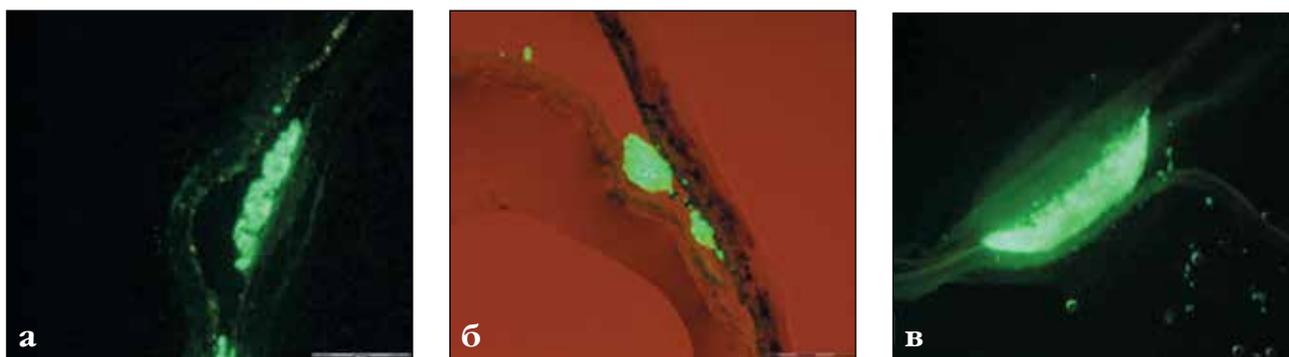
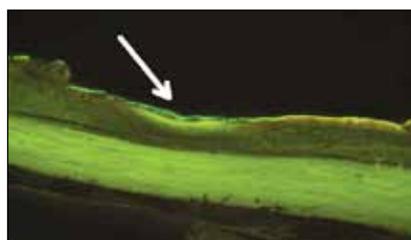


Рис. 4. Микроскопия в режиме флюоресценции. Увеличение x4 (а), x10 (б). Контроль. 3 сутки. Клетки НЕК-293 GFP в полости стекловидного тела



**Рис. 5.** Микроскопия в режиме флуоресценции (а, в), в проходящем свете (б). Увеличение  $\times 4$ . Опыт. 5 сутки (а), 7 сутки (б), 14 сутки (в). Клетки HEK-293 GFP расположены субретинально



**Рис. 6.** Микроскопия в режиме флуоресценции. Увеличение  $\times 10$ . Опыт. 1 мес. Флуоресценция в месте фиксации ПЭМИ (указано стрелкой)

ство при проведении флуоресцентной микроскопии криогистологических срезов в эксперименте *in vivo*. По результатам нашего исследования безопасности и эффективности культивирования данного типа клеток с магнитными микрочастицами было выявлено, что жизнеспособность составляет 95%, это значительно превышает результаты, полученные другими авторами, использующими магнитные наночастицы, где жизнеспособность достигала лишь 30% к первым суткам [15].

По проведенным клиническим исследованиям нами было показано, что предложенная хирургическая методика локального субретинального введения клеточного материала является контролируемой и малоинвазивной, риск травматизации тканей минимален в связи с возможностью визуализации места расположения ПЭМИ за счет диафаноскопии и разработанного устройства дозирования, осуществляющего деликатный доступ в субретинальное пространство.

В 2012 г. Yanai A. с соавт. доказали возможность использования магнитных наночастиц для направленной доставки стволовых клеток в область сетчатки, но авторы не ставили перед собой цель длительной фикс-

сации трансплантированного материала в зоне введения [21]. Проведенное нами морфологическое исследование выявило, что предложенная методика позволяет осуществить фиксацию клеточного материала в месте их локального введения сроком до 14 дней. Отсутствие клеток в зоне введения через 1 мес. мы связываем с иммунным ответом на ксеногенные стволовые клетки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная технология введения магнитных частиц в цитоплазму эмбриональных стволовых клеток почки человека линии HEK-293 позволяет получить функционально активную и жизнеспособную клеточную популяцию, пригодную для экспериментальной трансплантации. Разработанное устройство для субретинального дозированного введения стволовых клеток обеспечивает деликатное введение клеток с минимальной травматизацией окружающих тканей. ПЭМИ с лазерным зондом оригинальной конструкции позволяет проводить интраоперационную диафаноскопию с целью точного определения места фиксации и последующего контролируемого локального введения стволовых клеток. Модифицированный нами хирургический способ субретинального введения стволовых клеток с проведением срединной витрэктомии и заполнением витреальной полости газовой воздушной смесью позволяет избежать выхода клеток из субретинального пространства в полость стекловидного тела.

Предложенная оригинальная методика локального субретинального

введения стволовых клеток, меченых магнитными частицами, с эписклеральной фиксацией полимерного эластичного магнитного имплантата является эффективным способом фиксации клеточного материала в зоне трансплантации. Данная технология может стать основой для изучения механизмов воздействия стволовых клеток на очаг повреждения, разработки новых перспективных стратегий в офтальмологии, а также открыть новые возможности применения стволовых клеток в качестве средств нейропротекции или альтернативных терапевтических приемов при лечении различной патологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Белый Ю.А., Темнов А.А., Миргородская С.А. Разработка технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток с магнитными частицами для субретинального введения // Вестник ОГУ. – 2013. – Т. 4, № 153. – С. 40-43.
2. Белый Ю.А., Темнов А.А., Терещенко А.В., Миргородская С.А. Мезенхимальные стволовые клетки с магнитными частицами для субретинального введения в офтальмологии // Офтальмология. – 2013. – Т. 10, № 3. – С. 72-74.
3. Беляковский П.В., Позняк Н.И., Лобанок Е.С. Применение эмбриональных стволовых клеток и факторов роста стволовых клеток (stem cell factor, lif) при токсическом поражении зрительного нерва у кроликов // Рецепт. – 2009. – № 12. – С. 156-161.
4. Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. Клеточная трансплантация – перспективное направление регенерационной медицины // Биологические резервы клеток костного мозга и коррекция органных дисфункций / Под ред. В.И. Шумакова, Н.А. Онищенко. – М., 2009. – С. 49-76.

5. Ромащенко А.Д., Ковалев А.В. Способ лечения атрофии зрительного нерва посредством трансплантации аутологичных стволовых клеток // Официальный бюллетень Российского агентства по патентам и товарным знакам. – 2009. – № 26. – С. 8.

6. Тахчиди Х.П., Гаврилова Н.А., Козлова О.Ю. и др. Влияние стволовых/прогениторных клеток на функциональное состояние и степень выраженности дегенеративных изменений сетчатки у крыс линии Campbell // Офтальмохирургия. – 2010. – № 3. – С. 33-38.

7. Arbab A.S., Jordan E.K., Wilson L.B. et al. In vivo trafficking and targeted delivery of magnetically labeled stem cells // Hum. Gene Ther. – 2004. – Vol. 15, № 4. – P. 351-360.

8. Chacko D.M., Das A.V., Zhao X. et al. Transplantation of ocular stem cells: the role of injury in incorporation and differentiation of grafted cells in the retina // Vision Res. – 2003. – Vol. 43, № 8. – P. 937-946.

9. Ebnert S., Glanemann M., Schmitt A. et al. The possible use of stem cells in regenerative medicine: dream or reality? // Langenbecks Arch. Surg. – 2009. – № 394. – P. 985-997.

10. Hara A., Niwa M., Kunisada T. et al. Embryonic stem cells are capable of gen-

erating a neuronal network in the adult mouse retina // Brain Res. – 2004. – Vol. 999, № 2. – P. 216-221.

11. Hu Y., Tan H.B., Wang X.M. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells protect against retinal ganglion cell loss in aged rats with glaucoma // Clin. Interv. Aging. – 2013. – № 8. – P. 1467-1470.

12. Jiang T.S., Cai L., Ji W.Y. et al. Reconstruction of the corneal epithelium with induced marrow mesenchymal stem cells in rats // Mol. Vis. – 2010. – № 16. – P. 1304-1316.

13. Jiang Y., Zhang Y., Zhang L. et al. Therapeutic effect of bone marrow mesenchymal stem cells on laser-induced retinal injury in mice // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – Vol. 15, № 6. – P. 9372-9385.

14. Joe A.W., Gregory-Evans K. Mesenchymal stem cells and potential applications in treating ocular disease // Curr. Eye Res. – 2010. – Vol. 35, № 11. – P. 941-952.

15. Kyrtatos P., Lehtolainen P., Junemann-Ramirez M. et al. Magnetic tagging increases delivery of circulating progenitors in vascular injury // JACC Cardiovasc. Interv. – 2009. – Vol. 2, № 8. – P. 794-802.

16. Liu X.W., Zhao J.L. Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of corneal en-

dothelium damages in rabbits // Zhonghua Yan. Ke. Za. Zhi. – 2007. – Vol. 43, № 6. – P. 540-545.

17. Mears A., Kondo M., Swain P. et al. Nrl is required for rod photoreceptor development // Nature Genet. – 2001. – № 29. – P. 447-452.

18. Silvermann M.S., Hughes S.E. Photoreceptor transplantation in inherited and environmentally induced retinal degeneration: anatomy, immunohistochemistry and function // Prog. Clin. Biol. Res. – 1989. – № 314. – P. 687-704.

19. Song M., Kim Y., Rob J. et al. Using a neodymium magnet to target delivery of ferumoxide-labeled human neural stem cells in a rat model of focal cerebral ischemia // Hum. Gene Ther. – 2010. – Vol. 21, № 5. – P. 603-610.

20. Takahashi M., Palmer T.D., Takahashi J., Gage F.H. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina // Mol. Cell Neurosci. – 1998. – Vol. 12, № 6. – P. 340-348.

21. Yanai A., Häfeli U.O., Metcalfe A.L. et al. Focused magnetic stem cell targeting to the retina using superparamagnetic iron oxide nanoparticles // Cell. Transplant. – 2012. – Vol. 21, № 6. – P. 1137-1148.

Поступила 26.08.2014

## КНИГИ

Канюков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Рахматуллин Р.Р., Яхина О.М.

### Гистозэквивалент биопластического материала в офтальмологии



Гистозэквивалент биопластического материала в офтальмологии: Монография / Канюков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Рахматуллин Р.Р., Яхина О.М. – М.: Изд-во «Офтальмология», 2014. – 176 с.

В монографии рассмотрены вопросы регенерации роговицы в условиях применения наноструктурированного биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты. Представлено гисто- и органобластическое влияние данного гистозэквивалента как на неизменную роговицу, так и при механическом и химическом ее повреждениях. Приведено морфофункциональное подробное описание методики аппликации биоматериала, при этом особое внимание уделено гисто- и цитологическому описанию экспериментальной модели химического ожога роговицы у кроликов.

Монография предназначена для врачей-офтальмологов, пластических хирургов, морфологов, преподавателей, аспирантов и студентов медицинских и биологических вузов.

Адрес издательства «Офтальмология»: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.  
Тел.: 8 (499) 488-89-25. Факс: 8 (499) 488-84-09.  
E-mail: publish\_mntk@mail.ru