

Трансплантация клеток слизистой оболочки полости рта при лечении лимбально-клеточной недостаточности

Т.В. Целая^{✉1}, Е.В. Ченцова¹, Н.В. Боровкова²

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

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

[✉] Автор, ответственный за переписку: Татьяна Валерьевна Целая, врач-офтальмолог, аспирант отдела травматологии и реконструктивной хирургии НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, tatyana.tselaya@gmail.com

Аннотация

Обзор посвящен актуальной проблеме лечения пациентов с лимбально-клеточной недостаточностью. В статье обобщается практический опыт применения в различных областях медицины и в офтальмологии, в частности развивающегося метода реконструкции тканей с помощью клеток слизистой оболочки щеки. В офтальмологии длительное время ведется поиск эффективного метода лечения пациентов с недостаточностью стволовых клеток лимба, вызывающей интенсивное помутнение и васкуляризацию роговицы с последующим значительным снижением остроты зрения. Последние исследования показали, что трансплантация эпителиальных клеток слизистой оболочки полости рта может значительно улучшить прогноз лечения данной категории больных. И хотя механизмы их действия все еще недостаточно изучены, имеющийся положительный опыт применения слизистой оболочки полости рта в различных отраслях медицины для восстановления тканей представляет большой интерес для практикующих врачей, учитывая потенциальные возможности ее применения, терапевтическую эффективность и простоту получения. Краткий обзор литературы касается описания морфологических особенностей слизистой оболочки щеки и анализ опубликованных данных использования буккального эпителия в различных отраслях медицины и в офтальмологии в частности.

Ключевые слова: роговица, лимб, лимбально-клеточная недостаточность, слизистая оболочка полости рта, культивируемые клетки слизистой оболочки полости рта

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование Исследование проводилось без спонсорской поддержки

Для цитирования: Целая Т.В., Ченцова Е.В., Боровкова Н.В. Трансплантация клеток слизистой оболочки полости рта при лечении лимбально-клеточной недостаточности. *Трансплантология*. 2022;14(1):68–78. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-1-68-78>

Transplantation of cells of the oral mucosa in the treatment of limbal stem cell deficiency

T.V. Tselaya^{✉1}, E.V. Chentsova¹, N.V. Borovkova²

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

² N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
3 Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090 Russia

✉Corresponding author: Tatyana V. Tselaya, Ophthalmologist, the Postgraduate of the Traumatology and Reconstructive Surgery Department, the Helmholtz National Medical Research Center for Eye Diseases, tatyana.tselaya@gmail.com

Abstract

The actual problem of treatment of patients with limbal cell stem deficiency is reviewed. We summarized practical experience in various fields of medicine, aimed at tissue reconstruction using cells of the buccal mucosa. In ophthalmology, an effective method has long been searched to treat patients with the limbal stem cell deficiency causing an intense opacification and vascularization of the cornea and followed by a significant decrease in visual acuity. Recent studies have shown that the transplantation of epithelial cells of oral mucosa can significantly improve the treatment of patients with this disease. Although the mechanisms of oral mucosa epithelial cells' action are still insufficiently studied, the existing positive experience of oral mucosa using for tissue repair has great interest to practitioners, giving potential possibilities of its use, therapeutic effectiveness and ease of obtaining. A brief review of the literature presents the description of the morphological features of the buccal mucosa and the analysis of published data about the use of buccal epithelium in various branches of medicine and in ophthalmology, in particular.

Keywords: cornea, limbal stem cell deficiency, oral mucosa, cultivated cells of the oral mucosa

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest
FINANCING The study was performed without external funding

For citation: Tselaya TV, Chentsova EV, Borovkova NV. Transplantation of cells of the oral mucosa in the treatment of limbal stem cell deficiency. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022;14(1):68–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-1-68-78>

AM – амниотическая мембрана
ЛКН – лимбально-клеточная недостаточность

МКОЗ – максимальная корригированная острота зрения
НВ – неоваскуляризация

Введение

В настоящее время проблема слепоты и слабо-видения является одной из социально и экономически значимых проблем. Слепота в результате патологии роговицы по данным Всемирной организации здравоохранения (2010) составляет 5% от всех причин слепоты в мире [1]. По данным регионов Российской Федерации за 2012 год роговичная слепота составляет 5,9% всех слепых и слабовидящих России. В структуре роговичной слепоты РФ 9% приходится на язвы роговицы, 21% – рубцы и помутнения роговицы различной этиологии.

В связи с этим поиск способов лечения заболеваний и повреждений глаза, при которых имеется нарушение процессов регенерации, приводящее в итоге к значительному снижению остроты

зрения и слепоте, остается актуальной задачей офтальмологии [2–4].

Для восстановления зрительных функций у пациентов с поражением роговицы требуются реконструктивные вмешательства. Для реконструкции поверхности переднего отрезка глаза применяют: лечебные мягкие контактные линзы, адгезивные вещества и клеи, аутоконъюнктивальную пластику, а также трансплантацию донорской роговицы и амниотической мембраны (АМ) [2]. Однако функциональные результаты таких операций не всегда благоприятны, особенно у пациентов с рецидивирующими поражениями роговичного эпителия и васкуляризованными помутнениями, основной причиной которых является гибель или функциональная недостаточность стволовых клеток лимба, ведущая к нарушению регенерации тканей роговицы

[4]. К тому же сохраняется высокий риск отторжения аллотрансплантата и необходимость длительного приема иммуносупрессивных препаратов. В связи с этим остается по-прежнему актуальным поиск оптимальной хирургической методики реконструкции роговицы. Популярными становятся способы с использованием клеточных технологий – применение прогениторных клеток лимба и буккальных клеток (клеток эпителия слизистой оболочки полости рта) [5].

Применение конъюнктивального лимбального аутографта (в иностранной литературе CLAU – conjunctival limbal autograft transplantation) и трансплантация культивированного лимбального эпителия (в иностранной литературе CLET – cultivated limbal epithelium transplantation) наиболее часто используют при лечении односторонней лимбально-клеточной недостаточности (ЛКН) [6, 7]. Основными недостатками данных методик являются невозможность их выполнения при двустороннем тотальном поражении зоны лимба и сохраняющийся риск развития ЛКН непораженного заболеванием глаза, а также ограниченность количества материала при необходимости повторной трансплантации [8, 9]. Поэтому для лечения двусторонней ЛКН позднее стали применять различные варианты аллогенной лимбальной трансплантации, при которой наблюдаются хорошие функциональные результаты, однако требуется длительное применение иммуносупрессоров, а также сохраняется риск отторжения трансплантата [8, 10].

За последние годы фокус внимания ученых сместился в сторону применения стволовых клеток из аутологичных тканей других структур. Одним из таких вариантов стала слизистая оболочка полости рта, максимально схожая по структуре с эпителием роговицы.

Строение эпителия роговицы и слизистой оболочки полости рта

Эпителий роговицы представлен многослойным плоским неороговевающим эпителием, толщиной до 50 мкм, состоящим из 5–6 слоев правильно расположенных клеток, соединенных между собой десмосомами [11, 12]. Клетки самого внутреннего слоя (базального, зародышевого, герминативного), расположенные в один ряд, имеют призматическую форму и крупное овальное ядро, находящееся близко к вершине клетки [11, 12]. За счет размножения клеток этого слоя обновляется эпителий, происходит закрытие дефектов

на поверхности роговицы [11]. Базальные клетки расположены на бесструктурной передней пограничной мембране – боуеновой оболочке толщиной 6–9 мкм. Она представляет собой бесклеточную модифицированную гиалинизированную часть стромы, состоящую из переплетенных коллагеновых фибрилл и связанных с ними протеогликанов [12]. К базальному слою примыкают 2–3 слоя многогранных с округлым ядром клеток, отростки которых внедряются между соседними клетками эпителия подобно крыльям (крылатые, или шиповатые, клетки) [12]. Далее располагаются 2 слоя резко уплощенных клеток, не имеющих признаков ороговения, с плоской наружной гранью. Удлиненные узкие ядра клеток наружных слоев эпителия располагаются параллельно поверхности роговицы и имеют плоскую наружную грань [11, 12].

Слизистая оболочка полости рта образована двумя слоями: многослойным плоским эпителием, располагающимся на базальной мембране, и собственной пластинкой слизистой оболочки [13–17].

Собственная пластинка слизистой оболочки представлена клетками (фибробластами, макрофагами, тучными клетками, лимфоцитами, лейкоцитами), межклеточным веществом, содержащим коллагеновые (III, IV, V, VI), эластические и ретикулярные волокна, а также и аморфное вещество [13, 14, 16].

Базальная мембрана состоит из светлого мелкозернистого слоя – светлой пластинки, образованной гликопротеинами, и глубже лежащего слоя – плотной пластинки, содержащей коллагеновые волокна (коллаген I, III, IV типов) [13, 16].

Эпителий слизистой оболочки полости рта представлен эпителием ороговевающего и неороговевающего типа в зависимости от отдела ротовой полости [13–15].

Так, эпителий слизистой оболочки щеки является многослойным плоским неороговевающим, за исключением линии вдоль смыкания зубов, и состоит из следующих слоев: базального, шиповатого, зернистого и поверхностного [13–17].

Базальный слой представлен клетками кубической или призматической формы, лежащими на базальной мембране. Среди этих клеток имеются малодифференцированные (прогениторные) клетки, за счет пролиферации и дифференцировки которых происходит непрерывное образование эпителиоцитов и поддержание целостности эпителия [14, 16].

Шиповатый слой состоит из нескольких слоев крупных клеток неправильной формы с многочисленными отростками [13, 16].

Зернистый слой образован несколькими слоями уплощенных, веретеновидных на разрезе клетками с высокой способностью к синтезу белков [14].

Поверхностный слой представлен плотно упакованными уплощенными клетками, которые постоянно слущиваются [13, 16].

Учитывая все вышеописанное, можно сделать вывод, что строение эпителиальной ткани слизистой щеки и роговой оболочки глаза схожее. Это позволяет рассматривать буккальный эпителий в качестве культуры для создания тканеинженерных конструкций для лечения поврежденных переднего отрезка органа зрения.

Опыт применения слизистой оболочки полости рта эпителия в других областях медицины

Слизистую оболочку полости рта наиболее часто используют в таких областях медицины, как урология и гинекология. На протяжении многих лет слизистую оболочку щеки используют в реконструктивной урологии при стриктурах мочеиспускательного канала. С начала 1990-х годов трансплантат слизистой оболочки щеки был наиболее часто используемым материалом для замещающей уретропластики. Один трансплантат слизистой оболочки щеки может быть использован для лечения стриктур длиной до 4–7 см в зависимости от размеров полости рта [18].

В 2012 г. S.B. Kulkarni et al. опубликовали результаты ретроспективного анализа лечения 117 мужчин со стриктурой уретры различной этиологии и протяженностью 10–18 см с помощью одностороннего рассечения уретры и дорсального размещения двух трансплантатов слизистой оболочки щеки [19]. Результат операции считался успешным, если пациенту не требовалось никаких дополнительных вмешательств, включая дилатацию или уретротомию. Из 117 пациентов лечение было успешное у 98 (83,7%), неудачным – у 19 (16,3%). Из 104 случаев без предшествующего лечения 90 (86,5%) были успешными, а 14 (13,5%) – неудачными. Из 13 пациентов с повторной уретропластикой у 8 (61,5%) был успешный исход.

Помимо традиционных лоскутов в настоящее время разрабатываются альтернативные материалы с использованием тканевой инженерии

аутологичной слизистой оболочки щеки для замещающей уретропластики. Буккальный трансплантат, который считается лучшей заменой ткани уретры при реконструктивных операциях, обеспечивая 80–90% удовлетворительных отдаленных результатов, в настоящее время может быть культивирован при помощи тканевой инженерии. Это позволяет избежать массивного забора ткани при сложных и протяженных стриктурах уретры [20, 21].

Опыт применения слизистой оболочки полости рта в офтальмологии

Первые упоминания о применении слизистой ротовой полости в офтальмологии встречаются в начале XX века. R. Denig в 1912 году и P.H. Ballen в 1963 году проводили исследования, направленные на определение возможности использования многослойного, плоского, неороговевающего эпителия неглазного происхождения в качестве аутоотрансплантата для покрытия дефектов глазной поверхности, вызванных химическими (щелочными) ожогами. В качестве источника тканей исследователи использовали слизистую оболочку губы [22–24]. В экспериментальной части на здоровых и обожженных гидроксидом натрия глазах кроликов и в клинической части при свежих ожогах средней и тяжелой степени своего исследования P.H. Ballen использовал трансплантат слизистой оболочки, состоящий из эпителия и собственной пластинки слизистой оболочки. Трансплантацию проводили в кратчайшие сроки после получения ожога, ей предшествовало удаление некротизированной конъюнктивы и субконъюнктивы. Далее трансплантат был уложен на поврежденную глазную поверхность и подшит к склере. Трансплантаты у кроликов оставались адгезивными при их размещении на рану, полностью очищенную от некротических тканей и соприкасающуюся хотя бы одним краем с областью, где функционировали кровеносные сосуды. Трансплантаты довольно быстро фиброзировались и были сильно васкуляризованы [23]. Аутоотрансплантация слизистой оболочки губы была проведена у 8 пациентов из 15: в 2 случаях из 2 щелочных ожогах средней степени и в 6 случаях из 13 тяжелой степени. У 7 пациентов с тяжелыми ожогами проводили только консервативную терапию. При последующем наблюдении у всех пациентов, получающих только консервативную терапию, произошла перфорация роговицы, тогда как среди пациентов, которым была произведена трансплантация

слизистой оболочки губы, только у 2 пациентов с ожогом тяжелой степени трансплантат отслоился, и в дальнейшем произошла перфорация [23]. P.H. Vallan предполагал, что трансплантат слизистой оболочки действует как мост для неоваскуляризации лимба и роговицы, что способствует клеточной инфильтрации с последующим фиброзом и далее предотвращает перфорацию роговицы. Таким образом, предложенный метод снижает риск перфорации роговицы при ожогах средней и тяжелой степеней, однако в связи с выраженным фиброзом имеет неудовлетворительные функциональные результаты в виде низкой остроты зрения.

В последующие годы продолжалось изучение возможности трансплантации слизистой оболочки полости рта на поверхность роговицы. В 1986 г. I.K. Gipson et al. изучали *in vitro* возможность адгезии эпителиального пласта, полученного после обработки полнослойного лоскута слизистой оболочки полости рта новозеландского кролика диспазой II с последующим механическим отделением пинцетом эпителия от нижележащих слоев к деэпителизированной поверхности роговицы [24]. В ходе эксперимента было установлено, что между базальной мембраной роговицы и клетками эпителия формировались гемидесмосомы, что подтверждало адгезию эпителия к деэпителизированной поверхности роговицы. Учитывая полученные результаты, ученые продолжили исследование *in vivo*. Исследование проводили на роговицах новозеландских кроликов, которые предварительно были либо механически деэпителизированы по своей площади или только с височной стороны с сохранением базальной мембраны, либо была произведена поверхностная кератэктомия. Далее на поверхность роговицы укладывали алло- или ауто трансплантат (подготовленный эпителиальный пласт) в центральную или роговично-лимбальную зоны с наложением четырех-шести узловых нейлоновых швов, закладывали в конъюнктивальную полость и производили боковую тарзорафию. Во всех случаях размер трансплантата был меньше раневой поверхности роговицы. Швы с век удаляли через 24 часа, швы с трансплантата удаляли на 4-е или 5-е сутки после трансплантации на деэпителизованную поверхность роговицы и на 7-е сутки – при поверхностной кератэктомии. Было установлено, что трансплантаты, расположенные в центральной аваскулярной области роговицы, не адгезировались к поверхности роговицы и отторгались, а алло- и ауто трансплантаты

эпителия, фиксированные в роговично-лимбальной зоне, оставались адгезированными на протяжении всего срока наблюдения за животными, но под трансплантатом формировались новообразованные сосуды. Ученые предположили, что так происходит из-за того, что для поддержания пересаженного эпителиального пласта адгезированным к поверхности роговицы необходимы близкорасположенные сосуды. Ученые предположили, что если трансплантацию проводить на поверхность васкуляризированной роговицы, это позволит оставаться эпителию жизнеспособным и в последующем добиться полного закрытия дефекта эпителия роговицы. Таким образом, предложенный способ лечения повреждения поверхности роговицы дает возможность добиться регенерации, однако наличие неоваскуляризации роговицы при трансплантации и поверхностная неоваскуляризация, развивающаяся после трансплантации, ограничивают использование данного способа лечения с оптической целью.

В целом в XX веке ученые, изучающие эффективность трансплантации слизистой оболочки полости рта при повреждении поверхности роговицы, предложили методы, предотвращающие грубое нарушение морфологии роговицы, но зрительные функции остаются невысокими. В последующие годы исследователи ставят целью не только сохранение целостности роговицы, но и улучшение зрительных функций, начинают проводить изучение трансплантации культивированных *ex vivo* клеток слизистой оболочки полости рта при поражении роговицы.

В 2004 году T. Nakamura et al. провели первую трансплантацию аутологичных эпителиальных клеток полости рта, культивированных *ex vivo* на АМ человека у пациентов с синдромом ЛКН [25]. В исследовании участвовали 4 пациента (6 глаз) с синдромом Стивенса–Джонсона (3 глаза) и с тяжелыми ожогами роговицы (3 глаза). За 2–3 недели до трансплантации у каждого пациента брали образцы слизистой оболочки полости рта, из которых в дальнейшем выделяли и культивировали на деэпителизированной АМ эпителиальные клетки. Далее культивированный на АМ эпителий слизистой оболочки рта был пересажен на поверхность роговицы поврежденного глаза. После удаления с поврежденной роговицы конъюнктивальной ткани укладывали трансплантат и подшивали его к склере в области лимба. Через 2 суток после трансплантации поверхность роговицы всех прооперированных глаз была чистой и гладкой, проба с флуорес-

цеином показала, что вся поверхность роговицы была эпителизирована. Средний срок наблюдения после трансплантации составил 13,8 месяца. Во всех случаях определялась поверхностная периферическая неоваскуляризация непосредственно под АМ. Послеоперационная острота зрения улучшилась на две или более строчки. В течение всего периода наблюдения на поверхности глаза сохранялся пересаженный эпителий, и случаев персистирующих дефектов роговицы не было.

М. Hirayama et al. в 2004–2009 гг. проводили исследование, в котором сравнивали эффективность трансплантации культивированных клеток слизистой оболочки полости рта на АМ и пласта клеток без подложки, которые культивировали в чашках, покрытых фибрином, у 32 пациентов (по 16 в каждой группе) с синдромом ЛКН [26]. В послеоперационном периоде оценивали стабильность глазной поверхности по выраженности симблефарона, неоваскуляризации (НВ) и конъюнктивизации роговицы. Трансплантация листа клеток без подложки обеспечила стабильную глазную поверхность у 10 (62,5%) из 16 глаз через 12 месяцев наблюдения, персистирующие дефекты эпителия наблюдали на 4 глазах, а конъюнктивизация роговицы – в 2 глазах. Во второй группе стабильная глазная поверхность была достигнута в 6 глазах (37,5%) из 16, персистирующие дефекты роговичного эпителия наблюдались в 6 глазах, а конъюнктивизация роговицы – в 4 глазах. Среднее значение послеоперационной остроты зрения улучшилось через 1 ($p=0,016$), 3 ($p=0,0061$), 6 ($p=0,041$) и 12 ($p=0,0090$) месяцев в группе без подложки. Повышение остроты зрения больше, чем на две строчки наблюдалось на 11 глазах (68,8%). В группе с АМ в качестве подложки для культивированных клеток слизистой оболочки полости рта среднее значение послеоперационной остроты зрения значительно улучшилось через 1 ($p=0,024$) и 3 ($p=0,023$) месяцев, но не наблюдалось через 6 или 12 месяцев. Улучшение остроты зрения более чем на 2 строчки было зарегистрировано на 7 глазах (43,8%) из 16 в этой группе. Таким образом, среднее значение послеоперационной остроты зрения была значительно лучше в группе без подложки. В данном исследовании выделяли 4 степени НВ роговицы: 0-я степень – НВ отсутствует, 1-я степень – НВ периферической области роговицы, 2-я степень – НВ не доходит до оптического центра роговицы, 3-я степень – НВ, доходящая до центра роговицы. В послеоперационном периоде НВ 3-й степени имела место в 7 глазах (43,8%)

в группе без подложки и в 10 глазах (62,5%) в группе с АМ. Частота НВ 2-й степени значительно снизилась через 1, 3 и 6 месяцев в группе без подложки и через 1 и 3 месяца в группе АМ. Через 12 месяцев частота встречаемости глаз с НВ 2-й степени была значительно меньше в группе без подложки, чем в группе АМ ($p=0,023$). Ни в одном случае не наблюдали тяжелых послеоперационных осложнений в двух группах. Таким образом, результаты исследования указывают на то, что аутологичная трансплантация эпителиальных клеток слизистой оболочки полости рта без подложки, культивированных на чашках с фибриновым сгустком, обеспечивает более высокие среднесрочные клинические результаты, чем при использовании трансплантатов с АМ в качестве подложки.

В 2013 году С. Sotozono et al. опубликовали результаты многолетнего изучения эффективности трансплантации культивированных на АМ клеток буккального эпителия при тотальной ЛКН у 40 пациентов (46 глаз) [27]. По этиологии ЛКН пациенты были разделены на четыре группы: первая группа включала пациентов с синдромом Стивенса–Джонсона (21 глаз), вторая – с глазным рубцовым пемфигоидом (10 глаз), третья – с химическим или термическим ожогом (7 глаз), четвертая – с другими заболеваниями (8 глаз), сопровождающимися развитием ЛКН (с идиопатической ЛКН (3 глаза), с лучевой кератопатией (1 глаз), с болезнью «трансплантат против хозяина» (1 глаз), с врожденной аниридией (1 глаз), с дегенерацией роговицы Сальца–Манна (1 глаз), с ЛКН, индуцированной токсичностью лекарств (1 глаз). В исследовании оценивали максимальную скорректированную остроту зрения (МКОЗ) и состояние глазной поверхности (эпителиальные дефекты, конъюнктивизацию, НВ, помутнение, кератинизацию роговицы, симблефарон) до трансплантации, на 4-й, 12-й и 24-й недели после трансплантации. У всех пациентов через 24 недели после трансплантации МКОЗ была не ниже 0,01.

У пациентов первой группы МКОЗ значительно улучшилась через 4, 12 и 24 недель после операции ($p=0,0005$, $p=0,0010$ и $p=0,0117$ соответственно). Состояние глазной поверхности также значительно улучшилась через 4, 12 и 24 недели после операции ($p=0,0001$ для каждого момента времени).

Во второй группе МКОЗ значительно улучшилась на 4-й неделе после операции ($p=0,0156$), но позже это улучшение нивелировалось. Однако

улучшение состояния поверхности глаза сохранялось на протяжении всего периода наблюдения ($p=0,0020$, $p=0,0020$ и $p=0,0078$ соответственно для 4, 12 и 24 недель).

У пациентов третьей группы МКОЗ не изменялась до 24-й недели после операции, но состояние поверхности глаза у всех 7 пациентов значительно улучшилось ($p=0,0156$ для каждого периода наблюдения). В четвертой группе МКОЗ значительно улучшилась у 6 пациентов из 8, улучшение состояние глазной поверхности также наблюдалось только у 6 пациентов на 24-й неделе после трансплантации. Ни у одного пациента не возникло серьезных системных осложнений. Основными послеоперационными осложнениями были стойкие дефекты эпителия роговицы (в глазах 16 (40,0%) из 40 пациентов, чаще у пациентов с синдромом Стивенса–Джонсона), язва роговицы (2 пациентов (5,0%)), транзиторное повышение внутриглазного давления на фоне применения местных стероидных препаратов (4 пациента (10,0%)), которое нормализовалось после снижения дозы стероидов, инфекционное поражение роговицы (2 пациента), купированное через неделю на фоне инстилляций антибактериальных препаратов. В этом исследовании также было показано, что тяжесть симблефарона и НВ являются прогностическими факторами улучшения зрения на 24-й неделе после трансплантации ($p=0,0023$ и $p=0,0173$ соответственно).

В ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» на базе отдела травматологии и реконструктивной хирургии совместно с отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» в 2013–2018 гг. было изучено влияние трансплантации комбинированной биоконструкции, состоящей из культивированных клеток буккального эпителия, коллагенового матрикса (коллаген I типа) и мягкой контактной линзы на регенерацию роговицы после ее повреждения [5, 28]. После экспериментального изучения воздействия данной биоконструкции на заживление эпителиально-стромального дефекта роговицы (ускорение регенерации и репарации роговицы, восстановление ее структуры) было проведено ограниченное клиническое исследование, в котором участвовали 10 пациентов (8 мужчин и 2 женщины) с диагнозами термический ожог (3 пациента) и химический ожог роговицы (3 пациента) различной степени тяжести. Во всех случаях имело место ожоговое повреждение (некроз) конъюнктивы и роговицы с помутнением от поверхностного до стромального

на фоне ЛКН. Острота зрения варьировала от 0,01 до 0,1, в среднем 0,05. Конструкцию укладывали на поврежденную роговицу с последующим наложением тугой повязки на веки для дополнительной фиксации. После снятия конструкции через 3–5 суток у всех пациентов наблюдалось сокращение площади эрозии и ее глубины, уменьшение отека и повышение прозрачности ткани роговицы. Отек роговицы был полностью купирован в среднем на 3-и–4-е сутки. Через 3–6 суток наблюдали полную эпителизацию роговицы у 7 пациентов, у 3 эрозия сохранялась, но ее глубина и площадь уменьшились. У 8 пациентов сохранялось поверхностное помутнение роговицы. Острота зрения в среднем составила 0,1–0,2. У 3 пациентов через 5–9 суток после первой была проведена повторная трансплантация комбинированной конструкции, после которой на 3-и–5-е сутки роговица была полностью эпителизирована. В течение всего срока наблюдения (6 мес–1,5 года) отмечен рецидив эрозии только у 3 пациентов, в связи с чем им было проведено повторное лечение аутологичными клетками буккального эпителия в составе комбинированной конструкции. В результате во всех случаях была достигнута полная эпителизация эрозии роговицы. Исследователи пришли к выводу, что культивированные клетки буккального эпителия в составе биоконструкции стимулируют заживление дефектов роговицы, способствуют торможению васкуляризации и конъюнктивизации пораженной зоны.

Y.J. Kim et al. в 2014–2016 гг. оценивали эффективность трансплантации пласта культивированного эпителия слизистой оболочки полости рта без использования подложки (в иностранной литературе – with biomaterial-free cultured oral mucosal epithelial cell sheets (COMETs)) у пациентов с тотальной ЛКН [29]. В исследовании участвовали 8 человек (8 глаз), у 6 из которых причиной развития ЛКН был синдром Стивенса–Джонсона, у 1 – глазной рубцующийся пемфигоид и у 1 – тяжелый химический ожог. Дооперационная острота зрения была равна или меньше движению руки у лица. Результат оценивали как положительный, если через 6 месяцев после операции отсутствовал дефект эпителия роговицы, инвазия фиброваскулярной ткани не доходила до оптической зоны роговицы, не рецидивировал симблефарон и наблюдалось улучшение остроты зрения. Через 6 месяцев наблюдения острота зрения улучшилась на 5 глазах (62,5%) на 2 или более строчки. Глазная поверхность была

восстановлена на 6 глаз (75%) через 6 месяцев после трансплантации, без рецидива значительной фиброваскулярной инвазии. Полная стабильная эпителизация была достигнута в среднем за 53,6 суток. На 2 глазах (25%) добиться стабильного восстановления глазной поверхности не удалось: в 1 случае (пациент с рецидивирующим рубцовым пемфигоидом) инвазия фиброваскулярной ткани достигла отпической зоны роговицы через 3 месяца, в другом случае (пациент с синдромом Стивенса–Джонсона) на всем сроке наблюдения отмечали персистирующий дефект эпителия. Ни в одном случае не выявили системных осложнений, самым распространенным местным осложнением были рецидивирующие дефекты эпителия (4 глаза (50%) с синдромом Стивенса–Джонсона), эпителизация которых была достигнута наложением АМ или контактной линзы.

Таким образом, по данным литературы, лечение повреждений роговицы при ЛКН с применением культивированных *ex vivo* клеток слизистой оболочки полости позволяет восстановить структуру роговицы и повысить остроту зрения.

Заключение

В настоящее время культивированные клетки слизистой оболочки полости рта являются самым распространенным, но не до конца изученным источником клеток для трансплантации при лечении пациентов с двусторонним синдромом лимбально-клеточной недостаточности различной этиологии. Кроме того, остается малоизученным и дискуссионным вопрос применения некультивированных клеток слизистой оболочки полости рта эпителия в офтальмологии. Использование таких клеток имеет несомненные преимущества перед культивированными: процесс культивации является более финансово затратным и продолжительным. Таким образом, изучение эффективности применения некультивированных клеток слизистой оболочки полости рта в лечении пациентов с лимбально-клеточной недостаточностью является перспективным направлением в офтальмологии.

Список литературы

- World Health Organization. *Global data on visual impairments 2010*. WHO; 2012:3–4. Available at: <https://www.who.int/blindness/GLOBALDATAFINALforweb.pdf> [Accessed November 8, 2021].
- Ситник Г.В. Современные клеточные биотехнологии в офтальмологии. Амниотическая мембрана как субстрат для культивирования стволовых эпителиальных клеток. *Медицинский журнал (Белоруссия)*. 2006;(4):16–19.
- Макаров П.В. К хирургической тактике лечения тяжелой и особо тяжелой ожоговой травмы глаз (сообщение 2). *Вестник офтальмологии*. 2002;118(4):8–10.
- Burman S, Tejwani S, Vemuganti GK, Gopinathan U, Sangwan VS. Ophthalmic application of preserved human amniotic membrane: a review of current indications. *Cell Tissue Banking*. 2004;5(3):161–175. PMID: 15509905 <https://doi.org/10.1023/B:SATV.0000046067.25057.0a>
- Егорова Н.С., Ченцова Е.В., Боровкова Н.В., Макаров М.С., Сторожева М.В. Репаративный эффект биоконструкции на основе коллагена I типа и клеток буккального эпителия при лечении глубоких дефектов роговицы в эксперименте. *Трансплантология*. 2017;9(3):226–235. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2017-9-3-226-235>
- Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 1989;96(5):709–722. PMID: 2748125 [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(89\)32833-8](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(89)32833-8)
- Pellegrini G, Traverso CE, Franzini AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*. 1997;349(9057):990–993. PMID: 9100626 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)11188-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)11188-0)
- Zhao Y, Ma L. Systematic review and meta-analysis on transplantation of ex vivo cultivated limbal epithelial stem cell on amniotic membrane in limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2015;34(5):592–600. PMID: 25789694 <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000398>
- Cabral JV, Jackson CJ, Utheim TP, Jirsova K. Ex vivo cultivated oral mucosal epithelial cell transplantation for limbal stem cell deficiency: a review. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):301. PMID: 32693830 <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01783-8>
- Дубовиков А.С., Гаврилюк И.О., Куликов А.Н., Чурашов С.В., Черныш В.Ф., Безушко А.В. Лимбальная недостаточность: этиология, патогенез, принципы и перспективы хирургического лечения. *Российский офтальмологический журнал*. 2019;12(1):103–111. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-1-103-111>
- Копачева В.Г. (ред.) *Глазные болезни*. 4-е изд., испр. и доп. Москва: Офтальмология; 2018.
- Габдрахманова А.Ф., Каюмов Ф.А., Авхадеева С.Р. *Значение строения и функции органа зрения в клинической практике*. Уфа: ГБОУ ВПО БГМУ МЗ РФ; 2016.
- Гемонов В.В., Лаврова Э.Н., Фалин Л.И. *Развитие и строение органов ротовой полости и зубов*. Москва: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2002.
- Быков В.Л. *Гистология и эмбриональное развитие органов полости рта человека*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2014.
- Данилов Р.К., Боровая Т.Г. *Гистология, эмбриология, цитология*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2020.
- Вавилова Т.П. *Биохимия тканей и жидкостей полости рта*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
- Бойчук Н.В., Исламов Р.Р., Улумбеков Э.Г., Чельшев Ю.А. *Гистология, эмбриология, цитология*. 4-е изд., испр. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
- Gallegos MA, Santucci RA. Advances in urethral stricture management. *F1000Res*. 2016;5:2913. PMID: 28105329 <https://doi.org/10.12688/f1000research.9741.1> eCollection 2016.
- Kulkarni SB, Kulkarni JY, Kirpekar DV. A new technique of urethroplasty for balanitis xerotica obliterans. *J Urol*. 2000;163(Suppl):352. (abstract V331).
- Горелова А.А., Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Горелов А.И., Юдинцева Н.М., Орлова Н.В. и др. Тканеинженерные технологии в реконструкции уретры. *Медицинский альянс*. 2018;(3):75–82.
- Osman NI, Hillary C, Bullock AJ, MacNeil S, Chapple CR. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;82–83:69–76. PMID: 25451857 <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.006>
- Denig R. Eine chirurgische Behandlung für Kalkverletzungen des Auges. *Münchener Medizinische Wochenschrift*. 1912;59(1):579–590.
- Ballen PH. Mucous membrane grafts in chemical (lye) burns. *Am J Ophthalmol*. 1963;55:302–312. PMID: 13966160 [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(63\)92687-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(63)92687-4)
- Gipson IK, Geggel HS, Spurr-Michaud SJ. Transplant of oral mucosal epithelium to rabbit ocular surface wounds in vivo. *Arch Ophthalmol*. 1986;104(10):1529–1533. PMID: 3767686 <https://doi.org/10.1001/archophth.1986.01050220123039>
- Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(10):1280–1284. PMID: 15377551 <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.038497>
- Hirayama M, Satake Y, Higa K, Yamaguchi T, Shimazaki J. Transplantation of cultivated oral mucosal epithelium prepared in fibrin-coated culture dishes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(3):1602–1609. PMID: 22323487 <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7847>
- Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, Ueta M, et al. Visual improvement after cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *Ophthalmology*. 2013;120(1):193–200. PMID: 23084239 <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.07.053>
- Егорова Н.С., Ченцова Е.В., Флора С.В., Боровкова Н.В., Конюшко О.И., Макаров М.С. Технологии создания, оценка биосовместимости и безопасности коллагенового матрикса в составе бионженерной клеточной конструкции. *Российский офтальмологический журнал*. 2017;10(2):71–77. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2017-10-2-71-77>
- Kim YJ, Lee HJ, Ryu JS, Kim YH, Jeon S, Oh JY, et al. Prospective clinical trial of corneal reconstruction with bio-material-free cultured oral mucosal epithelial cell sheets. *Cornea*. 2018;37(1):76–83. PMID: 29040119 <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001409>

References

- World Health Organization. *Global data on visual impairments 2010*. WHO; 2012:3–4. Available at: <https://www.who.int/blindness/GLOBALDATAFINALforweb.pdf> [Accessed November 8, 2021].
- Sitnik GV. Sovremennye kletochnye biotekhnologii v oftalmologii. Amnioticheskaya membrana kak substrat dlya kul'tivirovaniya stvolovykh epitelial'nykh kletok. *Medical Journal (Belarus)*. 2006;(4):16–19. (In Russ.).
- Makarov PV. On surgical strategy in the treatment of severe and extremely severe burns of the eyes. Communication 2. *Annals of Ophthalmology=Vestnik oftalmologii*. 2002;118(4):8–10. (In Russ.).
- Burman S, Tejwani S, Vemuganti GK, Gopinathan U, Sangwan VS. Ophthalmic application of preserved human amniotic membrane: a review of current indications. *Cell Tissue Banking*. 2004;5(3):161–175. PMID: 15509905 <https://doi.org/10.1023/B:CATB.0000046067.25057.0a>
- Egorova NS, Chentsova EV, Borovkova NV, Makarov MS, Storozheva MV. Experimental repair of deep corneal defects using a bio-construct comprising a collagen type I matrix loaded with buccal epithelial cells. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2017;9(3):226–235. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2017-9-3-226-235>
- Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 1989;96(5):709–722. PMID: 2748125 [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(89\)32833-8](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(89)32833-8)
- Pellegrini G, Traverso CE, Franzini AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*. 1997;349(9057):990–993. PMID: 9100626 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)11188-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)11188-0)
- Zhao Y, Ma L. Systematic review and meta-analysis on transplantation of ex vivo cultivated limbal epithelial stem cell on amniotic membrane in limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2015;34(5):592–600. PMID: 25789694 <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000398>
- Cabral JV, Jackson CJ, Utheim TP, Jirsova K. Ex vivo cultivated oral mucosal epithelial cell transplantation for limbal stem cell deficiency: a review. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):301. PMID: 32693830 <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01783-8>
- Dubovikov AS, Gavriyuk IO, Kulikov AN, Churashov SV, Chernysh VF, Bezushko AV. Limbal stem cell deficiency: etiology, pathogenesis, principles and prospects of surgical treatment. *Russian Ophthalmological Journal*. 2019;12(1):103–111. (In Russ.). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-1-103-111>
- Kopaeva VG. (ed.) *Eye diseases*. 4th ed, revised and enlarged. Moscow: Medicine Publ.; 2002. (In Russ.).
- Gabdrakhmanova AF, Kayumov FA, Avkhadeeva SR. *Znachenie stroeniya i funktsii organa zreniya v klinicheskoy praktike*. Ufa: GBOU VPO BGMU MZ RF Publ.; 2016. (In Russ.).
- Gemonov VV, Lavrova EN, Falin LI. *Razvitie i stroenie organov rotovoy polosti i zubov*. Moscow: GOU VUNMTs MZ RF Publ.; 2002. (In Russ.).
- Bykov VL. *Gistologiya i embrional'noe razvitie organov polosti rta cheloveka*. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2014. (In Russ.).
- Danilov RK, Borovaya TG. *Gistologiya, embriologiya, tsitologiya*. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2020. (In Russ.).
- Vavilova TP. *Biokhimiya tkaney i zhidkostey polosti rta*. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2008. (In Russ.).
- Boychuk NV, Islamov RR, Ulumbekov EG, Chelyshev YuA. *Gistologiya, embriologiya, tsitologiya*. 4th ed, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2016. (In Russ.).
- Gallegos MA, Santucci RA. Advances in urethral stricture management. *F1000Res*. 2016;5:2913. PMID: 28105329 <https://doi.org/10.12688/f1000research.9741.1> eCollection 2016.
- Kulkarni SB, Kulkarni JY, Kirpekar DV. A new technique of urethroplasty for balanitis xerotica obliterans. *J Urol*. 2000;163(Suppl):352. (abstract V331).
- Gorelova AA, Muraviev AN, Vinogradova TI, Gorelov AI, Yudincheva NM, Orlova NV, et al. Tissue-engineering technology in urethral reconstruction. *Meditsinskij alyans*. 2018;3:75–82. (In Russ.).
- Osman NI, Hillary C, Bullock AJ, MacNeil S, Chapple CR. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;82–83:69–76. PMID: 25451857 <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.006>
- Denig R. Eine chirurgische Behandlung für Kalkverletzungen des Auges. *Münchener Medizinische Wochenschrift*. 1912;59(1):579–590.
- Ballen PH. Mucous membrane grafts in chemical (lye) burns. *Am J Ophthalmol*. 1963;55:302–312. PMID: 13966160 [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(63\)92687-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(63)92687-4)
- Gipson IK, Geggel HS, Spurr-Michaud SJ. Transplant of oral mucosal epithelium to rabbit ocular surface wounds in vivo. *Arch Ophthalmol*. 1986;104(10):1529–1533. PMID: 3767686 <https://doi.org/10.1001/archophth.1986.01050220123039>
- Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(10):1280–1284. PMID: 15377551 <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.038497>
- Hirayama M, Satake Y, Higa K, Yamaguchi T, Shimazaki J. Transplantation of cultivated oral mucosal epithelium prepared in fibrin-coated culture dishes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(3):1602–1609. PMID: 22323487 <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7847>
- Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, Ueta M, et al. Visual improvement after cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *Ophthalmology*. 2013;120(1):193–200. PMID: 23084239 <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.07.053>
- Egorova NS, Chentsova EV, Flora SV, Borovkova NV, Konyushko OI, Makarov MS. Technologies of creation, evaluation of biocompatibility and safety of the collagen matrix in the bioengineering cell construction. *Russian Ophthalmological Journal*. 2017;10(2):71–77. (In Russ.) <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2017-10-2-71-77>
- Kim YJ, Lee HJ, Ryu JS, Kim YH, Jeon S, Oh JY, et al. Prospective clinical trial of corneal reconstruction with bio-material-free cultured oral mucosal epithelial cell sheets. *Cornea*. 2018;37(1):76–83. PMID: 29040119 <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001409>

Информация об авторах

**Татьяна Валерьевна
Целая**

врач-офтальмолог, аспирант отдела травматологии и реконструктивной хирургии
ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0003-3013-685X>, tatyana.tselaya@gmail.com
50% – написание текста, поиск публикаций по теме статьи

**Екатерина Валериановна
Ченцова**

проф., д-р мед. наук, руководитель отдела травматологии и реконструктивной
хирургии ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» МЗ РФ,
<https://orcid.org/0000-0002-8394-1038>
25% – научное редактирование

**Наталья Валерьевна
Боровкова**

д-р мед. наук, заведующая научным отделением биотехнологий и трансфузиологии
ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,
<https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>, BorovkovaNV@sklif.mos.ru
25% – научное редактирование

Information about the authors

Tatyana V. Tselaya

Ophthalmologist, the Postgraduate of the Traumatology and Reconstructive Surgery
Department, the Helmholtz National Medical Research Center for Eye Diseases,
<https://orcid.org/0000-0003-3013-685X>, tatyana.tselaya@gmail.com
50%, writing the text, search for publications on the topic of the article

Ekaterina V. Chentsova

Prof., Dr. Sci. (Med.), Head of the Traumatology and Reconstructive Surgery
Department, the Helmholtz National Medical Research Center for Eye Diseases,
<https://orcid.org/0000-0002-8394-1038>
25%, scientific editing

Natalya V. Borovkova

Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Department of Biotechnologies and
Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
<https://orcid.org/0000-0002-8897-7523>, BorovkovaNV@sklif.mos.ru
25%, scientific editing

Статья поступила в редакцию 27.09.2021;
одобрена после рецензирования 08.11.2021;
принята к публикации 27.12.2021

The article was received on September 27, 2021;
approved after reviewing November 8, 2021;
accepted for publication December 27, 2021