

## ПЕРСПЕКТИВЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ПАТОЛОГИИ СТРОМЫ РОГОВИЦЫ

Краснер К.Ю.<sup>1</sup>, Суровцева М.А.<sup>2</sup>, Трунов А.Н.<sup>1</sup>, Повещенко О.В.<sup>2</sup>, Черных В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза», Новосибирск, e-mail: post@mntk.nsk.ru;

<sup>2</sup>НИИ клинической и экспериментальной лимфологии - филиал «ФГБУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН», Новосибирск, e-mail: lymphology@niikel.ru

Литературный обзор включает в себя современные аспекты клеточной терапии патологии стромы роговицы. В настоящее время восстановительная клеточная терапия стромы роговицы является перспективным и малоизученным альтернативным направлением, позволяющим приблизиться к этиотропному лечению многих патологических состояний роговицы, ключевая роль которых заключается в потере кератоцитов. К ним можно отнести постожоговые, посттравматические, эктатические состояния роговицы, в том числе – кератоконус. Перспективная задача заключается в культивировании клеточной популяции стромы роговицы с целью восполнения утраченной толщины, продуцирования нового коллагена, создания «здорового» клеточного микроокружения в строме эктатической и поврежденной роговицы. Исследования в данной области приобретают все больший интерес благодаря тому, что стволовые клетки из глазных или экстраокулярных источников способны не только выживать и дифференцироваться в естественных условиях в кератоциты, но и продуцировать новый коллаген в строме реципиента. В моделях на животных было продемонстрировано, что стволовые клетки улучшают состояние роговицы при нарушении ее прозрачности на фоне искусственно вызванной дистрофии роговицы за счет ремоделирования стромы и модуляции кератоцитов хозяина. В моделях *in vivo* также было показано, что стволовые клетки улучшают состояние существовавших ранее рубцов роговицы и ее прозрачность при дистрофии, путем ремоделирования стромы и модуляции кератоцитов хозяина за счет паракринного влияния, а также оказывают иммуномодулирующее действие в сингенной, аллогенной и ксеногенной моделях.

Ключевые слова: клеточная терапия, роговица, строма роговицы, кератоконус, мезенхимальные стволовые клетки (МСК).

## PROSPECTS OF REGENERATIVE CELL THERAPY OF CORNEAL STROMA PATHOLOGY

Krasner K.Y.<sup>1</sup>, Surovtseva M.A.<sup>2</sup>, Trunov A.N.<sup>1</sup>, Poveschenko O.V.<sup>2</sup>, Chernykh V.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk Branch of S. Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk, e-mail: post@mntk.nsk.ru;

<sup>2</sup>Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, Novosibirsk, e-mail: lymphology@niikel.ru

The literature review includes modern aspects of cell therapy of corneal stroma pathology. Currently, regenerative cell therapy of the corneal stroma is a promising and poorly studied alternative approach to the treatment of many pathological changes in the cornea, in which a key role is assigned to the loss of keratocytes. These include post-burn, post-traumatic, and ectatic conditions of the cornea, including keratoconus. A promising task is to cultivate the cell population of the corneal stroma in order to replenish the lost thickness, produce new collagen, and create a "healthy" cellular microenvironment in the stroma of the ectatic and damaged cornea. Research in this area is becoming increasingly interesting due to the fact that stem cells from ocular or extraocular sources are able not only to survive and differentiate into keratocytes in natural conditions, but also to produce new collagen in the recipient's stroma. In animal models, it has been demonstrated that stem cells improve the condition of the cornea when its transparency is impaired against the background of artificially induced corneal dystrophy due to stroma remodeling and modulation of host keratocytes. *In vivo* models have also shown that stem cells improve the condition of pre-existing corneal scars and its transparency in dystrophy, by remodeling its stroma and modulating host keratocytes due to paracrine influence, and also have immunomodulatory effects in syngenic, allogeneic and xenogenic models.

Keywords: cell therapy, cornea, corneal stroma, keratoconus, mesenchymal stem cells (MSC).

Заболевания роговицы занимают 3 место среди всех причин слепоты [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Роговица представляет собой прозрачную соединительнотканную преломляющую структуру глаза. Ее главными функциями являются: защита структур передней камеры и обеспечение двух третей преломляющей силы глаза. Прозрачность – ключевое свойство роговицы, которое обеспечивается строгой морфологической структурой [2].

Цель: на основании анализа данных современной научной литературы оценить состояние проблемы использования различных источников получения стволовых клеток для регенеративной терапии стромы роговицы.

Здоровая роговица имеет центральную толщину от 490 до 620 мкм, 90% которой состоит из стромального слоя. Строма роговицы состоит из высокоорганизованных коллагеновых фибрилл, которые располагаются в пластинках и лежат параллельно поверхности роговицы. Строму пронизывают немиелинизированные нервные волокна, основными клеточными представителями являются кератоциты и иммунные клетки. Кератоциты - неподвижные мезенхимоподобные клетки, которые «тянутся» кератоподиями к соседним кератоцитам, образуя непрерывно связанную популяцию клеток. Кератоциты являются митотически покоящимися клетками, функция которых заключается в поддержании внеклеточного матрикса и прозрачности роговицы, обеспечивают строгое постоянство окружающей среды, осуществляя синтез коллагена, гликозаминогликанов, ростовых факторов и цитокинов, ингибиторов металлопротеиназ [3].

Однако клетки стромы роговицы составляют лишь 3-5% стромального объема [4]. Установлено, что нарушение функциональной активности кератоцитов приводит к изменению прозрачности роговицы [4]. Экстрацеллюлярный матрикс состоит из высокоорганизованного коллагена, матриксных металлопротеиназ и гликозаминогликанов. Кератокан и люмикан являются важными кератансульфатсодержащими гликозаминогликанами, которые высоко экспрессируются в кератоцитах роговицы [6] и регулируют ее прозрачность, организуя и поддерживая топографию коллагеновых фибрилл [7].

В патогенезе многих патологических изменений роговицы, таких как постожоговые, посттравматические, эктатические состояния (в том числе - кератоконус), особая роль отводится потере кератоцитов, связанной с увеличением апоптоза [8]. При далеко зашедшем кератоконусе часто наблюдается рубцевание роговицы, что может быть обусловлено не только последствием разрыва десцеметовой мембраны и изменениями биомеханических свойств, но и утратой функциональной активности кератоцитов. Согласно современным представлениям, одной из причин рубцевания роговицы является переход кератоцитов в

активированное состояние, их превращение в миофибробласты под воздействием трансформирующего фактора роста бета 2 (TGF- $\beta$ 2) и секрецией миофибробластами измененного внеклеточного матрикса с формированием непрозрачной фиброзной ткани [9].

Современное лечение далеко зашедшего кератоконуса, тотальных помутнений роговицы, тяжелых постожоговых и посттравматических состояний ограничивается трансплантацией роговицы. Следует отметить, что около 53% претендентов на кератопластику испытывают дефицит донорских роговиц [10]. Клеточная терапия может стать альтернативным этиотропным подходом к лечению различных патологий стромы роговицы, вызванных утратой и нарушением функциональной активности кератоцитов. Перспективными задачами являются культивирование «здоровой» популяции кератоцитов с целью восполнения утраченной толщины, продуцирования нового коллагена, создания «здорового» клеточного микроокружения в строме эктатической и поврежденной роговицы.

Все больший интерес к клеточной терапии связан с тем, что стволовые клетки из глазных и экстраокулярных источников способны не только выживать и дифференцироваться в естественных условиях в кератоциты взрослого человека, но и продуцировать новый коллаген в строме реципиента [11; 12]. В моделях на животных было продемонстрировано, что стволовые клетки улучшают состояние роговицы при нарушении ее прозрачности [13] на фоне искусственно вызванной дистрофии роговицы за счет ремоделирования стромы и модуляции кератоцитов хозяина [14-16]. В моделях *in vivo* также было показано, что стволовые клетки улучшают состояние существовавших ранее рубцов роговицы и восстанавливают прозрачность при дистрофии путем ремоделирования стромы роговицы и модуляции кератоцитов хозяина за счет паракринного влияния [13; 16], а также оказывают иммуномодулирующее действие в сингенной, аллогенной и даже ксеногенной моделях [16; 17].

Развитие современного направления регенерации стромы роговицы связано с использованием мезенхимальных стволовых клеток (MSC). Они могут быть получены из многих тканей человека, в том числе костного мозга, жировой ткани, пуповины, пульпы, десны, волосяного фолликула, роговицы и плаценты. Учитывая, что MSC из разных источников имеют сходное поведение *in vivo*, предполагают их способность дифференцироваться в кератоциты и модулировать строму роговицы [18].

Мезенхимальные стволовые клетки секретируют паракринные факторы, такие как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF) и трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF $\beta$ 1). Они способствуют миграции клеток, выживанию кератоцитов путем подавления апоптоза и экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса, увеличению реэпителизации

роговицы и заживлению стромальной раны [19]. Механизм действия различных факторов роста на заживление роговицы в настоящее время полностью не изучен.

Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (BM-MSC) являются наиболее широко изученными. При культивировании BM-MSC в селективной среде они дифференцируются в кератоцитоподобные клетки, экспрессируя маркеры кератоцитов, такие как люмикан и ALDH (альдегиддегидрогеназу), наряду с отсутствием кератокана и потерей экспрессии маркера MSC - альфа гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -smooth muscle actin) [20]. В модели *in vivo*, при трансплантации BM-MSCs человека в строму роговицы мышей, было продемонстрировано их выживание и дифференцировка в кератоциты, без признаков иммунного или воспалительного ответа. Недостатком применения данных клеток является то, что их выделение требует пункции костного мозга, сложной и болезненной процедуры [21].

Жировая ткань взрослого человека является хорошим источником аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (h-ADASCs), так как удовлетворяет многим требованиям: легкий доступ к ткани, высокий уровень выхода клеток и способность стволовых клеток дифференцироваться в несколько типов клеток (кератоциты, остеобласты, хондробласты, миобласты, гепатоциты, нейроны и т.д.). Клеточная дифференцировка h-ADASCs происходит под влиянием очень специфических стимулирующих факторов микроокружения, свойственных для каждого типа клеток, при этом образование нескольких видов клеток в разных нишах не происходит. Дифференцировка h-ADASCs в функциональные кератоциты была продемонстрирована *in vitro* и *in vivo* в модели на кроликах. Клетки, имплантированные интрастромально, экспрессировали не только коллаген I и VI типов (основные компоненты внеклеточного матрикса роговицы), а также кератокан и альдегиддегидрогеназу, без индукции иммунного или воспалительного ответа [18; 22].

Мезенхимальные стволовые клетки пуповины (UMSCs) представляют собой привлекательную клеточную альтернативу. Было показано, что при интрастромальном введении в роговицу UMSCs начинают экспрессировать кератокан, альдегиддегидрогеназу и люмикан, т.е. приобретают фенотип, свойственный кератоцитам, без индукции иммунного или воспалительного ответа. При этом отмечено улучшение прозрачности роговицы и увеличение толщины стромы с реорганизованными коллагеновыми ламеллами в модели на мышах. Однако аутологичное использование UMSCs в настоящее время ограничено сложностью забора и криоконсервации пуповины после рождения [23].

Стволовые клетки стромы роговицы (CSSCs) являются перспективным источником для клеточной терапии, поскольку методы их выделения и культивирования в настоящее время наиболее оптимизированы и усовершенствованы [24]. Лимб является нишей

стволовых клеток роговицы и содержит как эпителиальные (LESCs), так и стромальные стволовые клетки (CSSCs). Стромальные стволовые клетки роговицы расположены под базальной мембраной лимба и обладают характеристиками стволовых клеток. В культуре эти клетки демонстрируют фенотип, типичный для мезенхимальных стволовых клеток. Роль данных клеток заключается в обеспечении жизнеспособности LESCs [25; 26]. CSSCs экспрессируют гены, типичные для клеток нервного гребня, такие как PAX6, маркеры взрослых стволовых клеток, такие как ABCG2 и маркеры мезенхимальных стволовых клеток – CD73 и CD90. Они проявляют клональный рост, свойства самообновления и потенциал для дифференцировки в несколько различных типов клеток. В отличие от кератоцитов, стромальные стволовые клетки человека (h-CSSC) хорошо пролиферируют в условиях *in vitro* без потери их способности дифференцировать в кератоциты [27; 28].

В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что мезенхимальные стволовые клетки роговицы дифференцируются в эпителий роговицы и кератоциты [27; 29]. При культивировании на субстрате из параллельно выровненных полимерных нановолокон, h-CSSC синтезируют слои высокопараллельных коллагеновых волокон с упаковкой и диаметром фибрилл, идентичным ламеллам стромы человека [30].

В моделях *in vivo* также была продемонстрирована способность стромальных стволовых клеток человека экспрессировать фенотип кератоцитов, и данная способность была более выражена по сравнению с моделями *in vitro*. При введении в строму роговицы мыши стромальные стволовые клетки человека экспрессировали мРНК и белок кератоцитов, заменяя экстрацеллюлярный матрикс мыши компонентами матрицы человека. Трансплантированные клетки оставались жизнеспособными в течение многих месяцев, вероятно, становясь покоящимися кератоцитами [15].

Ряд приведенных успешных научных работ свидетельствует о том, что стволовые клетки стромы роговицы должны быть более эффективными для дифференцировки в кератоциты, так как они уже коммитированы в направлении роговицы. С другой стороны, технические сложности изоляции аутологичных стромальных стволовых клеток связаны с получением небольшого количества ткани и наличием контралатерального здорового глаза, который не всегда доступен (в случае двустороннего поражения). Данные недостатки могут существенно ограничивать их использование в клинической практике. Аллогенное использование CSSCs требует наличия в достаточном количестве живой или трупной донорской ткани роговицы [31].

Важно отметить, что терапевтический эффект MSC в поврежденной ткани не всегда связан с их прямой дифференцировкой в ткани хозяина, поскольку одновременно несколько механизмов могут вносить вклад в этот терапевтический эффект. Например, паракринная

секреция трофических и ростовых факторов трансплантированными клетками способна стимулировать резидентные стволовые клетки, уменьшать повреждение тканей и оказывать иммуномодулирующий эффект, в этом случае прямая клеточная дифференцировка MSC может быть не актуальна и даже отсутствовать [18; 31; 32].

Эмбриональные стволовые клетки имеют большой потенциал, но их использование ограничено этическими проблемами. Многие ученые связывают будущее развитие клеточной инженерии с iPSC-клетками (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки). iPSC-клетки получают из зрелых, специализированных клеток, перепрограммированных в незрелые или стволовые клетки. Эти клетки затем могут быть перенаправлены на дифференцировку в необходимую линию клеток с помощью специфических факторов и использованы для аутологичной трансплантации при минимальном риске иммунологического отторжения. Данные клетки представляют собой неограниченный ресурс стволовых клеток, из которых может быть получен любой тип клеток в организме [34; 35]. В работах *in vitro* была показана способность iPSC-клеток человека дифференцироваться в клетки нервного гребня (эмбриональные предшественники кератоцитов). Культивирование iPSC-клеток на ткани трупной роговицы способствует дифференцировке их в кератоциты, с приобретением кератоцитоподобной морфологии и экспрессией маркеров, сходных с кератоцитами роговицы [36]. Также было показано, что мезенхимальные стволовые клетки, полученные из iPSC-клеток, оказывают иммуномодулирующее действие на роговицу, сопоставимое с использованием MSC из костного мозга [37]. Ограничение использования iPSC-клеток связано с большим количеством воздействующих факторов на клетку при их индукции и, как следствие, возможной склонностью такой клеточной популяции к неограниченному делению.

При трансплантации используют как одни стволовые клетки, так и клетки на скаффолдах. Продукция коллагена трансплантированными стволовыми клетками ограничена, поэтому предполагается, что при далеко зашедшем кератоконусе эти клетки не смогут восстановить толщину крайне истонченной роговицы. В качестве скаффолдов используют децеллюляризованную аллогенную и ксеногенную роговицы. Децеллюляризованная роговица обеспечивает естественную среду для роста и дифференцировки клеток, не отторгается даже ксеногенными реципиентами, обеспечивает оптически прозрачный стромальный трансплантат с превосходной биосовместимостью и интеграцией в ткань хозяина в модели *in vivo* [38]. Однако в пилотном клиническом исследовании на 9 пациентах не было показано преимущества терапии далеко зашедшего кератоконуса аллогенной стромой, рецеллюляризованной аутологичными мезенхимальными

стволовыми клетками жировой ткани в сравнении с децеллюляризованной стромой без клеток [39].

Таким образом, поиск оптимального клеточного источника является актуальной проблемой до настоящего времени. Вызывает интерес предложенный группой авторов из Новосибирска альтернативный метод забора клеток роговицы *in vivo* из стромальных лентикул, полученных в результате кераторефракционной операции Relex Smile. Авторами исследования было показано, что выделенная из стромальных лентикул популяция клеток приобретает либо фенотип фибробластов при культивировании в сывороточной среде, либо фенотип кератоцитов – в бессывороточной среде, сохраняя способность к обратной цитодифференцировке. Также была продемонстрирована тенденция клеточной популяции фибробластов к увеличению выработки стромального фактора роста (SDF-1 $\alpha$ ) и статистически значимое снижение продукции фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ), что свидетельствует о снижении активности провоспалительных реакций и повышении функциональной активности кератоцитов стромы и их выживаемости [40].

В ряде научных учреждений в Российской Федерации также ведутся научные работы в этом направлении. Так, опубликованы данные об исследовании культур стволовых клеток с целью лечения лимбальной недостаточности [40], о разработке и изучении новых матриц-носителей лимбальных эпителиальных стволовых клеток для лечения постожоговых состояний роговицы [42], по моделированию трансплантации лимбальных эпителиальных стволовых клеток у лабораторных животных [43]. Представлены успешные результаты культивирования клеток эпителия слизистой губы человека для аутологичной трансплантации при синдроме двусторонней лимбальной недостаточности [44].

Таким образом, за последние 20 лет были предложены различные источники для получения стволовых клеток для регенерации клеточного состава роговицы в моделях *in vitro* и *in vivo*. Полученные экспериментальные данные вызывают широкий интерес к клеточной регенеративной терапии заболеваний роговицы, поскольку носят этиотропный характер. Развитие данной отрасли медицины в дальнейшем будет связано с необходимостью доказательства эффективности и безопасности клеточной регенеративной терапии в клинической практике, а также с изучением потенциальных различий в терапевтической эффективности клеток, полученных от разных доноров, и необходимостью создания нормативно-правовой базы для использования стволовых клеток на территории Российской Федерации.

## Список литературы

1. Robaei D., Watson S. Corneal blindness: a global problem. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014. vol. 42. no. 3. P. 213-214. DOI: 10.1111/ceo.12330.
2. Stramer B.M., Zieske J.D., Jung J.C., Austin J.S., Fini M.E. Molecular mechanisms controlling the fibrotic repair phenotype in cornea: implications for surgical outcomes. *Investigative Ophthalmology Visual Science*. 2003. vol. 44. no. 10. P. 4237-4246. DOI: 10.1167/iovs.02-1188.
3. Young R.D., Knupp C., Pinali C., Png K.M.Y., Ralphs J.R., Bushby A.J., Starborg T., Kadler K.E., Quantock A.J. Three-dimensional aspects of matrix assembly by cells in the developing cornea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014. vol. 111. no. 2. P. 687-692. DOI: 10.1073/pnas.1313561110.
4. Matthyssen S., Van den Bogerd B., Dhubhghaill S.N., Koppen C., Zakaria N. Corneal Regeneration: a Review of Stromal Replacements. *Acta biomaterialia*. 2018. vol. 69. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.01.023.
5. Hassell J.R., Birk D.E. The molecular basis of corneal transparency. *Experimental eye research*. 2010. vol. 91. no. 3. P. 326-335. DOI: 10.1016/j.exer.2010.06.021.
6. Carlson E.C., Liu C.Y., Chikama T., Hayashi Y., Kao C.W., Birk D.E., Funderburgh J.L., Jester J.V., Kao W.W.-Y. Keratocan, a cornea-specific keratan sulfate proteoglycan, is regulated by lumican. *The Journal of biological chemistry*. 2005. vol. 280. no. 27. P. 25541-25547. DOI: 10.1074/jbc.M500249200.
7. Kao W.W., Liu C.Y. Roles of lumican and keratocan on corneal transparency. *Glycoconjugate journal*. 2002. vol. 19. no. 4-5. P. 275-285. DOI: 10.1023/A:1025396316169.
8. Kim W.J., Rabinowitz Y.S., Meisler D.M., Wilson S.E. Keratocyte apoptosis associated with keratoconus. *Experimental eye research*. 1999. vol. 69. no. 5. P. 475-481. DOI: 10.1006/exer.1999.0719.
9. West-Mays A., Dwivedi J. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2006. vol. 38. no. 10. P. 1627-1631. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.03.010.
10. Gain P., Jullienne R., He Z., Aldossary M., Acquart S., Cognasse F., Thuret G. Global survey of corneal transplantation and eye banking. *JAMA Ophthalmology*. 2016. vol. 134. P. 167-173. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776.
11. Arnalich-Montiel F., Pastor S., Blazquez-Martinez A., Fernandez-Delgado J., Nistal M., Alio J.L., De Miguel M.P. Adipose-derived stem cells are a source for cell therapy of the corneal stroma. *Stem Cells*. 2008. vol. 26. no. 2. P. 570-579. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0653.

12. Espandar L., Bunnell B., Wang G.Y., Gregory P., McBride C. Adipose-derived stem cells on hyaluronic acid-derived scaffold: a new horizon in bioengineered cornea. *Archives of Ophthalmology*. 2012. vol. 130. P. 202-208. DOI: 10.1001/archophthalmol.2011.1398.
13. Mittal S.K., Omoto M., Amouzegar A., Sahu A., Rezazadeh A., Katikireddy K.R., Shah D.I., Sahu S.K., Chauhan S.K. Restoration of corneal transparency by mesenchymal stem cells. *Stem Cell Reports*. 2016. vol. 7. P. 583-590. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.09.001.
14. Demirayak B., Yuksel N.C., Celik O.S., Subaşı C., Duruksu G., Unal Z.S., Yıldız D.K., Karaöz E. Effect of bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on the natural course of corneal scarring after penetrating injury. *Experimental Eye Research*. 2016. vol. 151. P. 227-235. DOI: 10.1016/j.exer.2016.08.011.
15. Du Y., Carlson E.C., Funderburgh M.L., Birk D.E., Pearlman E., Guo N., Kao W.W., Funderburgh J.L. Stem cell therapy restores transparency to defective murine corneas. *Stem Cells*. 2009. vol. 27. P. 1635-1642. DOI: 10.1002/stem.91.
16. Kao W.W., Coulson-Thomas V.J. Cell therapy of corneal diseases. *Cornea*. 2016. vol. 35. suppl. 1. P. 9-19. DOI: 10.1097/ICO.0000000000001010.
17. De Miguel M.P., Fuentes-Julian S., Blazquez-Martinez A., Pascual C.Y., Aller M.A., Arias J., Arnalich-Montiel F. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications. *Current Molecular Medicine*. 2012. vol. 12. P. 574-591. DOI: 10.2174/156652412800619950.
18. Harkin D.G., Foyn L., Bray L.J., Sutherland A.J., Li F.J., Cronin B.G. Concise reviews: can mesenchymal stromal cells differentiate into corneal cells? A systematic review of published data. *Stem Cells*. 2015. vol. 33. no. 3. P. 785-791. DOI: 10.1002/stem.1895.
19. Jiang Z., Liu G., Meng F., Wang W., Hao P., Xiang Y., Wang Y., Han R., Li F., Wang L., Li X. Paracrine effects of mesenchymal stem cells on the activation of keratocytes. *British Journal of Ophthalmology*. 2017. vol. 101. no. 11. P. 1583-1590. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2016-310012.
20. Park S.H., Kim K.W., Chun Y.S., Kim J.C. Human mesenchymal stem cells differentiate into keratocyte-like cells in keratocyte-conditioned medium. *Experimental Eye Research*. 2012. vol. 101. P. 16-26. DOI: 10.1016/j.exer.2012.05.009.
21. Liu H., Zhang J., Liu C.Y., Hayashi Y., Kao W.W. Bone marrow mesenchymal stem cells can differentiate and assume corneal keratocyte phenotype. *Journal of Cell and Molecular Medicine*. 2012. vol. 16. P. 1114-1124. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2011.01418.x.
22. Arnalich-Montiel F., Pastor S., Blazquez-Martinez A., Fernandez-Delgado J., Nistal M., Alio J.L., De Miguel M.P. Adipose-derived stem cells are a source for cell therapy of the corneal stroma. *Stem Cells*. 2008. vol. 26. P. 570-579. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0653.

23. Liu H., Zhang J., Liu C.Y., Wang I.J., Sieber M., Chang J., Jester J.V., Kao W.W. Cell therapy of congenital corneal diseases with umbilical mesenchymal stem cells: lumican null mice. *PLoS One*. 2010. vol. 5. P. e10707. DOI: 10.1371/journal.pone.0010707.
24. Basu S., Hertszenberg A.J., Funderburgh M.L., Burrow M.K., Mann M.M., Du Y., Lathrop K.L., Syed-Picard F.N., Adams S.M., Birk D.E., Funderburgh J.L. Human limbal biopsy-derived stromal stem cells prevent corneal scarring. *Science Translational Medicine*. 2014. vol. 6. no. 266. P. 266ra172. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009644.
25. Funderburgh J.L., Funderburgh M.L., Du Y. Stem Cells in the Limbal Stroma. *The Ocular Surface*. 2016. vol. 14. no. 2. P. 113-120. DOI: 10.1016/j.jtos.2015.12.006.
26. Hashmani K., Branch M.J., Sidney L.E., Dhillon P.S., Verma M., McIntoch O.D., Horkinson A., Dua H.S. Characterization of corneal stromal stem cells with the potential for epithelial transdifferentiation. *Stem cell Res Ther*. 2013. vol. 4. no. 3. P. 75. DOI: 10.1186/scrt226.
27. Pinnamaneni N., Funderburgh J.L. Concise review: stem cells in the corneal stroma. *Stem Cells*. 2012. vol. 30. no. 6. P. 1059-1063. DOI: 10.1002/stem.1100.
28. Du Y., Funderburgh M.L., Mann M.M., SundarRaj N., Funderburgh J.L. Multipotent stem cells in human corneal stroma. *Stem Cells*. 2005. vol. 23. no. 9. P. 1266-1275. DOI: 10.1634/stemcells.2004-0256.
29. Katikireddy K.R., Dana R., Jurkunas U.V. Differentiation potential of limbal fibroblasts and bone marrow mesenchymal stem cells to corneal epithelial cells. *Stem Cells*. 2014. vol. 32. no. 3. P. 717-729. DOI: 10.1002/stem.1541.
30. Wu J., Du Y., Watkins S.C., Funderburgh J.L., Wagner W.R. The engineering of organized human corneal tissue through the spatial guidance of corneal stromal stem cells. *Biomaterials*. 2012. vol. 33. no. 5. P. 1343-1352. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.055.
31. Alió del Barrio J.L., Alió J.L. Cellular therapy of the corneal stroma: a new type of corneal surgery for keratoconus and corneal dystrophies. *Eye Vis (Lond.)*. 2018. vol. 5. P. 28. DOI: 10.1186/s40662-018-0122-1.
32. Yao L., Bai H. Review: mesenchymal stem cells and corneal reconstruction. *Molecular Vision*. 2013. vol. 19. P. 2237-2243.
33. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells: time to change the name! *Stem Cells Translational Medicine*. 2017. vol. 6. no. 6. P. 1445-1451. DOI: 10.1002/sctm.17-0051.
34. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007. vol. 131. no. 5. P. 861-872. DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.019.

35. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006. vol. 126. no. 4. P. 663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
36. Naylor R.W., McGhee C.N., Cowan C.A., Davidson A.J., Holm T.M., Sherwin T. Derivation of corneal keratocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells. *PLoS One*. 2016. vol. 11. no. 10. P. e0165464. DOI: 10.1371/journal.pone.0165464.
37. Yun Y.I., Park S.Y., Lee H.J., Ko J.H., Kim M.K., Wee W.R., Reger R.L., Gregory C.A., Choi H., Fulcher S.F., Prockop D.J., Oh J.Y. Comparison of the anti-inflammatory effects of induced pluripotent stem cell-derived and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in a murine model of corneal injury. *Cytherapy*. 2017. vol. 19. no. 1. P. 28-35. DOI: 10.1016/j.jcyt.2016.10.007.
38. Alio del Barrio J.L., Chiesa M., Garagorri N., Garcia-Urquia N., Fernandez-Delgado J., Bataille L., Rodriguez A., Montiel F.A., Zarnowski T., Álvarez de Toledo J.P., Alio J.L., De Miguel M.P. Acellular human corneal matrix sheets seeded with human adipose-derived mesenchymal stem cells integrate functionally in an experimental animal model. *Experimental Eye Research*. 2015. vol. 132. P. 91-100. DOI: 10.1016/j.exer.2015.01.020.
39. Alio Del Barrio J.L., Zarif M., Azaar A., Makdissy N., Khalil C., Harb W., Achkar I., Jawad Z.A., De Miguel M.P., Alio J.L. Corneal Stroma Enhancement With Decellularized Stromal Laminae With or Without Stem Cell Recellularization for Advanced Keratoconus. *American Journal of Ophthalmology*. 2018. vol. 186. P. 47-58. DOI: 10.1016/j.ajo.2017.10.026.
40. Краснер К.Ю., Суровцева М.А., Черных В.В. Функциональная активность фибробластов роговицы // *Современные технологии в офтальмологии*. 2020. № 3. С. 68. DOI: 10.25276/2312-4911-2020-3-68-69.
41. Суровцева М. А., Искаков И. А., Повещенко О. В., Лыков А.П., Ким И.И., Янкайте Е.В., Коненков В.И., Черных В.В. Характеристика культур клеток, полученных из лимба человека // *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019. Т. 39. № 3. С. 15-20. DOI: 10.15372/SSMJ20190302.
42. Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз. Состояние проблемы и новые подходы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 187 с.
43. Михайлова В.И., Поздеева Н.А., Батьков Е.Н. Лимбальные эпителиальные стволовые клетки, методы их культивирования и трансплантации при лечении лимбальной недостаточности // *Практическая медицина*. 2017. № 3. С. 111-114.
44. Борзенко С.А., Герасимов М.Ю., Малюгин Б.Э. Культивирование клеток эпителия слизистой губы человека для аутологичной трансплантации при двустороннем синдроме

лимбальной недостаточности роговицы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2019. Т.21. № 3. С. 111-120. DOI: 10.15825/1995-1191-2019-3-111-120.