

СОВРЕМЕННЫЕ АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ПРОЗРАЧНОСТИ СТРОМЫ РОГОВИЦЫ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Краснер К.Ю.^{1,2},
Повещенко О.В.²,
Суровцева М.А.²,
Трунов А.Н.¹,
Ким И.И.²,
Бондаренко Н.А.²,
Черных В.В.¹

¹ Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10, Россия)

² Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Краснер Кристина Юрьевна,
e-mail: kityli@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Статья представляет собой литературный обзор на тему современной концепции анатомо-физиологического строения и функционирования роговицы. Строгая морфологическая структура и гомеостаз ткани роговицы обеспечивают её прозрачность. Изучение механизмов, регулирующих постоянство внутренней среды ткани роговицы, позволяет приблизиться к пониманию перспектив регенеративной терапии патологии стромы роговицы. В статье подробно рассматриваются роль и функциональный потенциал стромальных клеток роговицы, которые способны к обратной цитодифференцировке, что в первую очередь обеспечивает поддержание гомеостаза ткани и прозрачности роговицы. Функциональная активность клеток роговицы может изменяться по ряду причин, которые могут носить характер экзогенных, ятрогенных (травма, инфекции и др.) либо быть эндогенными. К эндогенным причинам относят: патологии ауторегуляции клеток (например, ферментопатии); дефекты транспортных систем, приводящих к гипоксии тканей; расстройства нервно-гуморальной регуляции трофики. Физическая причина нарушения прозрачности роговицы заключается в увеличении рассеивания света. В статье приводятся пять основных причин повышенного светорассеяния в непрозрачной роговице, а также представлен обзор основных веществ – компонентов и продуктов клеточного синтеза стромальных клеток роговицы: цитокинов и факторов роста (комплекс из сигнальной молекулы и рецептора SDF1/CXCR4, инсулиноподобный фактор роста 1, фактор некроза опухоли альфа, молекула межклеточной адгезии 1, эритропоэтин, нейротрофические факторы, и др.). Таким образом, помутнение роговицы может вызываться как одним патогенетическим механизмом, так и комплексным воздействием нескольких факторов. Основные процессы регуляции тканевого гомеостаза направлены на поддержание уникальной морфологической структуры роговицы.

Ключевые слова: гомеостаз роговицы, кератоциты, строма роговицы, прозрачность роговицы

Статья поступила: 18.10.2022
Статья принята: 21.04.2023
Статья опубликована: 28.09.2023

Для цитирования: Краснер К.Ю., Повещенко О.В., Суровцева М.А., Трунов А.Н., Ким И.И., Бондаренко Н.А., Черных В.В. Современные анатомо-физиологические основы поддержания прозрачности стромы роговицы. Литературный обзор. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 186-198. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.21

MODERN ANATOMICAL AND PHYSIOLOGICAL BASES FOR MAINTAINING THE TRANSPARENCY OF THE CORNEAL STROMA. LITERATURE REVIEW

Krasner K.Yu. ^{1,2},
Poveshchenko O.V. ²,
Surovtseva M.A. ²,
Trunov A.N. ¹,
Kim I.I. ²,
Bondarenko N.A. ²,
Chernykh V.V. ¹

¹ Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Kolkhidskaya str. 10, Novosibirsk 630096, Russian Federation)

² Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Timakova str. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation)

Corresponding author:
Kristina Yu. Krasner,
e-mail: kityli@mail.ru

ABSTRACT

The article presents a literature review of the modern concept of anatomical and physiological structure and functioning of the cornea. The strict morphological structure and corneal tissue homeostasis ensure its transparency. Studying the mechanisms that regulate the constancy of the corneal tissue internal environment allows us to get closer to understanding the prospects for regenerative therapy for the corneal stroma pathology. The article discusses in detail the role and functional potential of corneal stromal cells, which are capable of reverse cytologic differentiation, which primarily ensures the maintenance of tissue homeostasis and corneal transparency. The functional activity of corneal cells can change for a number of reasons, which may be exogenous, iatrogenic (trauma, infection, etc.) or endogenous. Endogenous causes include: cell autoregulation pathologies (for example, enzyme defects); defects in transport systems leading to tissue hypoxia; disorders of the neuro-humoral regulation of trophism. The physical reason for the violation of the corneal transparency is an increase in the light scattering. The article presents five main causes of increased light scattering in the opaque cornea, and also provides an overview of the main substances – components and products of cellular synthesis of corneal stromal cells: cytokines and growth factors (complex of the signal molecule and the SDF1/CXCR4 receptor, insulin-like growth factor 1, tumor necrosis factor alpha, intercellular adhesion molecule 1, erythropoietin, neurotrophic factors, etc.). Thus, corneal opacity can be caused by a single pathogenic mechanism or be the result of a complex effect of several factors. The main processes of tissue homeostasis regulation are aimed at maintaining the unique morphological structure of the cornea.

Key words: corneal structure, keratocyte, corneal stroma, corneal transparency

Received: 18.10.2022
Accepted: 21.04.2023
Published: 28.09.2023

For citation: Krasner K.Yu., Poveshchenko O.V., Surovtseva M.A., Trunov A.N., Kim I.I., Bondarenko N.A., Chernykh V.V. Modern anatomical and physiological bases for maintaining the transparency of the corneal stroma. Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 186-198. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.21

**РАЗДЕЛ 1. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ.
СОВРЕМЕННЫЕ АНАТОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
СТРОЕНИЯ РОГОВИЦЫ. КЕРАТОЦИТЫ
СТРОМЫ И ИХ РОЛЬ В ПОДДЕРЖАНИИ
ПРОЗРАЧНОСТИ РОГОВИЦЫ**

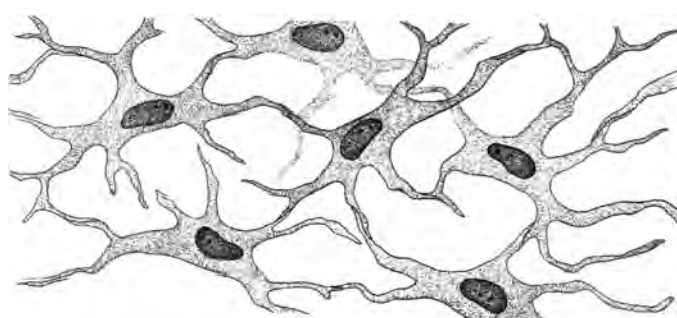
Нарушение зрения вследствие патологических изменений роговицы является третьей ведущей проблемой в офтальмологии после катаракты и глаукомы [1]. Роговица является уникальной преломляющей бессосудистой, прозрачной и плотно иннервируемой соединительнотканной структурой. Её роль заключается в светопроведении, защите структур передней камеры глаза и обеспечении 2/3 всей преломляющей силы глаза. Строгая морфологическая структура и гомеостаз ткани роговицы обеспечивают её прозрачность [2]. Из всего объёма роговицы 90 % принадлежит стромальному слою, рубцевание (фиброзирование) которого приводит к слепоте. Согласно значимому статистическому исследованию, 12,7 млн человек во всём мире находятся в листе ожидания на трансплантацию донорской роговицы [3].

Здоровая роговица человека имеет центральную толщину 470–620 мкм, толщина на периферии составляет 650–750 мкм. Строма представляет собой совокупность плотно упакованных коллагеновых волокон, собирающихся в пучки (фибриллы) и пластинки параллельно поверхности роговицы. Основными клеточными пред-

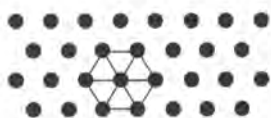
ставителями являются кератоциты и иммунные клетки. Установлена статистически значимая тенденция снижения максимальной плотности клеток стромы от передних отделов (в среднем около 40 000 клеток/мм³) к задним отделам в сторону Десцеметовой мембраны (в среднем около 20 000 клеток/мм³).

Кератоциты представляют собой митотически покоящиеся неподвижные клетки мезенхимального происхождения, которые имеют отростки-кератоподии, обеспечивающие контакт с соседними кератоцитами, образуя непрерывно связанную сеть (рис. 1а, б). Кератоциты выполняют функцию продукции и поддержания внеклеточного матрикса, обеспечения строгого морфоструктурного и биохимического постоянства и прозрачности ткани роговицы. Кератоциты являются уникальными клетками нервного гребня, которые участвуют в поддержании водного баланса и гомеостаза ткани благодаря синтезу ростовых факторов, строительных белковых молекул, цитокинов, нейропептидов и нейротрофинов, ингибиторов металлопротеиназ [4].

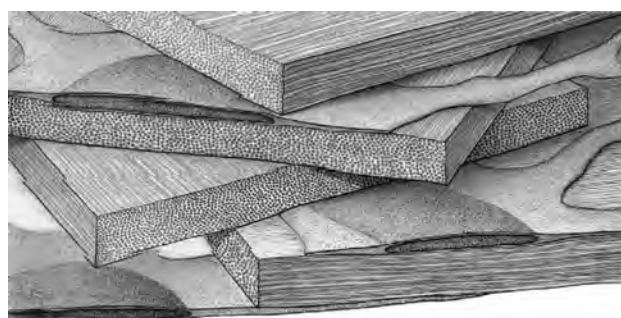
К компонентам экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) стромы роговицы относят высокоорганизованный коллаген (I, III, V, VI, XII типов) и гликозаминогликаны (кератокан, кератансульфат, декорин, мимекан и люмикан), которые синтезируются клетками-кератоцитами [6]. Кератокан и люмикан являются важными гликозаминогликанами, которые высоко экспрессируются в кератоцитах роговицы [7] и регулируют её прозрачность и баланс ги-



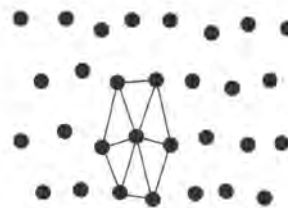
а



б



б



г

РИС. 1.

Общая схема строения стромы роговицы: **а** – схема клеточной сети стромы роговицы; **б** – схема строения плотной волокнистой соединительной ткани – изображены пластины коллагена, между которыми располагаются тонкие плоские клетки, контактирующие с соседними клетками с помощью отростков; **в** – схема ориентации коллагеновых волокон – каждое волокно расположено равноудалённо от других; **г** – схема ориентации коллагеновых волокон в непрозрачной роговице [5]

FIG. 1.

General scheme of the corneal stroma structure: **a** – scheme of the cellular network of the corneal stroma; **b** – structure of dense fibrous connective tissue – collagen plates with thin flat cells between them which contact with neighboring cells by means of processes; **v** – scheme of orientation of collagen fibers – each fiber is located equidistant from the others; **г** – scheme of orientation of collagen fibers in an opaque cornea [5]

дратации, организуя и поддерживая топографию коллагеновых фибрилл [8].

В роговице отсутствуют кровеносные сосуды, поэтому питание и обмен веществ происходят за счёт сосудов лимбальной сети, влаги передней камеры и слезной жидкости путём осмоса и диффузии [9]. Обменные процессы во многом восполняются обильной иннервацией, которая представлена трофическими, чувствительными и вегетативными нервными волокнами, образуя вокруг роговицы перилимбальное нервное сплетение. Входя в роговицу, нервы теряют миелиновую оболочку и становятся невидимыми, что также обеспечивает прозрачность роговичной ткани.

Травмы, инфекции и другие патологические процессы нарушают организацию стромы. В изменённых условиях (при повреждениях, ожогах, оперативном вмешательстве, в т. ч. при высвобождении IL-1 α , трансформирующего фактора роста β 1,2 (TGF- β 1,2, transforming growth factor)) часть покоящихся кератоцитов, расположенных в эпицентре повреждения, подвергаются апоптозу, образуя бесклеточную зону в области повреждения [10]. Кератоциты, граничащие с местом повреждения, вытягивают новые дендритоподобные отростки и мигрируют к бесклеточной зоне, прежде чем дифференцироваться и пролиферировать в репарационные фибробласты [11]. В то же время кератоциты с периферии также переходят к активированному состоянию, т. е. приобретают фенотип подвижных сократительных фибробластов благодаря реорганизации немышечного миозина (non-muscle myosin) и гладкомышечного альфа-актина (α -SMA, smooth muscle actin α) в цитоскелетные стрессовые волокна, мигрируя к месту повреждения, пролиферируя и окружая рану в виде связанной сети клеток [12]. Данная физиологическая трансформация фенотипа необходима для активации митотического цикла, повышения функциональной активности и реализации активного терапевтического эффекта – заживления стромальной раны. Наблюдаемое увеличение размера и количества органелл в клетках и приобретение клетками веретеновидной формы отражает усиленную синтетическую активность фибробластов [13]. Популяция фибробластов может далее дифференцироваться в миофибробласты, характеризующиеся экспрессией α -SMA и дополнительным увеличением стрессовых волокон. Фибробласты и миофибробласты запускают процессы регенерации в роговице, вызывая быстрое сокращение раны благодаря синтезу временной матрицы непрозрачного внеклеточного матрикса [14].

Временная матрица по составу и структуре отличается от неповреждённой стромы. При регенерации экстрацеллюлярный матрикс синтезируется активированными клетками ускоренно, в менее организованном порядке [15, 16]. Снижение синтеза кератокана происходит параллельно увеличению продукции декорина и хондроитина. Этот модифицированный внеклеточный матрикс способствует миграции фибробластов; однако его изменённая биохимия и структура могут вызывать помутнение роговицы. Постепенно временная матрица заменяется нормальными компонентами стромы, включая кол-

лаген I и III типов, для восстановления физиологической функции роговицы. Так, экспрессия коллагена возрастает в фибробластах и достигает более высоких значений в миофибробластах по сравнению с кератоцитами [17]. В частности, большая продукция коллагена I характерна для фибробластов и миофибробластов роговицы, что необходимо для ремоделирования ткани [18].

Миофибробласты характеризуются более крупными размерами по сравнению с фибробластами и экспрессируют высокие уровни α -SMA, виментина, а также десмина [19, 20], что позволяет дифференцировать данную клеточную популяцию от других. α -SMA, виментин и десмин представляют собой структурные белки, участвующие в образовании цитоскелета [21] – трёхмерной сети внутри миофибробласта, которая определяет форму и механическую поддержку клетки, обеспечивает движение и сократительную способность [22]. Клеточная популяция стромы роговицы обладает способностью к быстрой перестройке цитоскелета, с чем напрямую связан её функциональный потенциал, поскольку миофибробластами приобретается высокая сократительная способность, необходимая для физиологического ремоделирования ткани. Однако неконтролируемая пролиферация негативно сказывается на функции стромы, нарушая строго упорядоченную морфологическую структуру ткани, тем самым изменяя прозрачность роговицы. Является дискуссионным и открытым вопросом о возможности обратного перехода миофибробластов роговицы в исходные кератоциты в физиологических условиях *in situ*. Была показана возможность реверсии миофибробластов в фибробласты при обработке клеток низкими уровнями фактора роста фибробластов 1, 2 (FGF1, FGF2, fibroblast growth factor) [23]. Это открытие подтверждает идею о том, что миофибробласты и фибробласты роговицы представляют собой реверсивные фенотипы, а не терминально дифференцированные типы клеток.

Одна клеточная популяция, произошедшая из другой (рис. 2а) под действием определённых условий окружающей среды, имеет название «реверсированная» (рис. 2б), то есть подвергшаяся фенотипической трансформации. Понимание механизмов, которые регулируют трансформацию фенотипов роговичного кератоцита, необходимо для развития тканевой инженерии стромы роговицы.

В настоящее время многочисленными научными коллективами ведутся изыскания по определению оптимальных условий культивирования клеток роговицы. Существует несколько способов выделения стромальных клеток роговицы, которые включают в себя механическую (удаление эпителиального и эндотелиального слоёв) и длительную ферментативную обработку роговицы [24, 25]. Обычно для выделения клеток используют кадаверные и не пригодные для трансплантации роговицы человека. Недостатками известных способов являются трудоёмкость и недостаточная «чистота» клеточной популяции, поскольку в результате получают смесь из клеток, содержащую неоднородную популяцию из передних, средних и задних отделов стромы, а также примесь эпителиальных и эндотелиальных клеток соответствую-

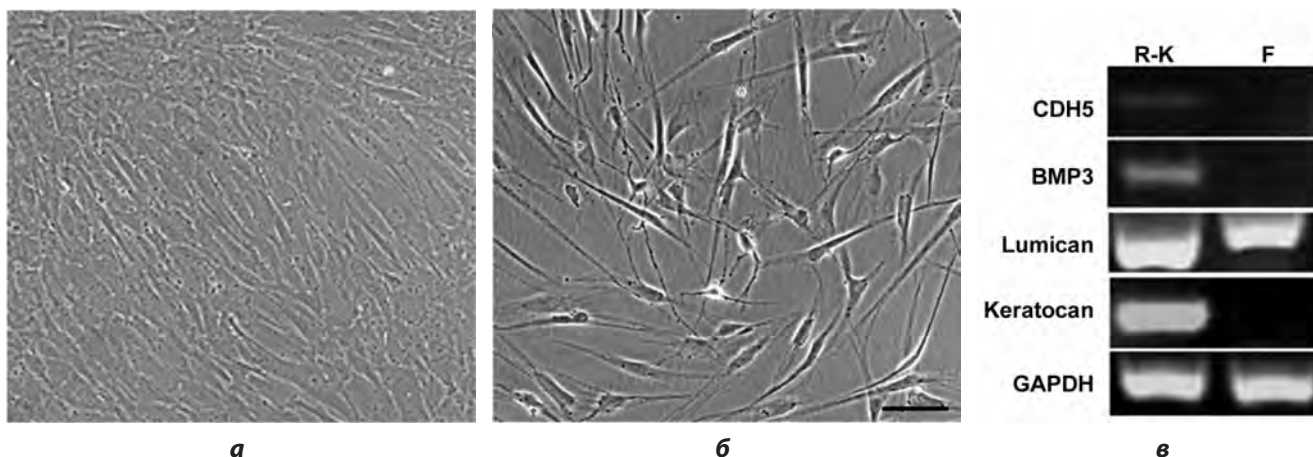


РИС. 2.
Морфология и некоторые маркеры экспрессии кератоцитов и фибробластов стромы роговицы: **а** – морфология фибробластов (F); **б** – морфология реверсированных кератоцитов (R-K); **в** – экспрессия специфических маркеров реверсированными кератоцитами и фибробластами [14]

FIG. 2.
Morphology and some markers of the expression of keratocytes and corneal stroma fibroblasts: **a** – morphology of fibroblasts (F); **б** – morphology of reversed keratocytes (R-K); **в** – expression of specific markers by reversed keratocytes and fibroblasts [14]

щих слоёв роговицы. В качестве источника клеток, альтернативного человеческой строме глаза, используют популяции клеток, полученных из стромы крупного рогатого скота, свиней, кроликов и мышей. В культуре с добавлением сыворотки стромальные клетки роговицы приобретают фенотип фибробластов, в бессывороточной среде с добавлением инсулина, трансферрина и селена (ИТС), напротив, сохраняют фенотип кератоцитов [26], а в присутствии аскорбиновой кислоты продуцируют и накапливают коллаген и протеогликаны, что имитирует их функции в нативной роговице [27].

Детальное изучение характеристик клеточных популяций стромы роговицы проводится с целью верификации, определения интенсивности и характера потенциального терапевтического эффекта. Одной из таких характеристик является определение фенотипических свойств клеточной популяции, то есть определение специфических маркеров экспрессии, которые отличают одну клеточную популяцию от другой (рис. 2в).

РАЗДЕЛ 2. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ПРОЗРАЧНОСТИ РОГОВИЦЫ

В структуре общего стромального объёма кератоциты составляют около 3–5 % [28]. На рисунке 3 представлено гистологическое строение роговицы, в собственном веществе которой наглядно определяется низкое содержание клеток. Такое соотношение необходимо для поддержания прозрачности роговицы и объясняется особенностями светопропускания. Цитоплазма митотически покоящегося кератоцита в меньшей степени рассеивает световой луч по причине низкого содержания органелл в клетках [29], благодаря чему уникальное строение роговицы определяет её функциональную роль.

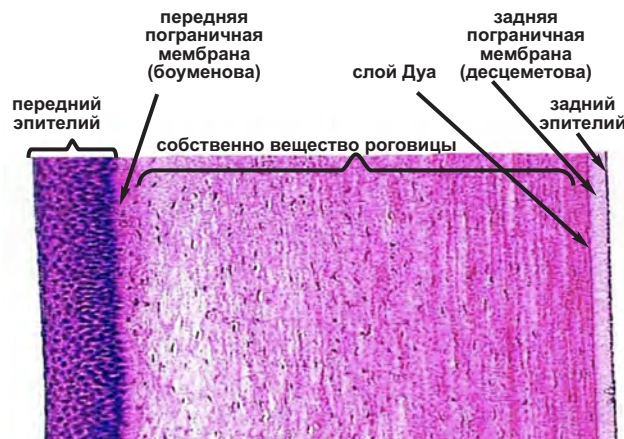


РИС. 3.
Гистологическое строение роговицы (окраска гематоксилин-эозином) [30]

FIG. 3.
Histological structure of the cornea (hematoxylin and eosin staining) [30]

Функциональная активность на уровне клетки (кератоцита) может изменяться по ряду причин, которые могут носить характер экзогенных, ятрогенных (травма, инфекции и др.) либо быть эндогенными. К эндогенным причинам относят: расстройства ауторегуляции клеток (например, наследственные или приобретённые ферментопатии); нарушения работы транспортных систем, вызывающих гипоксию тканей (клеток); расстройства эндокринной или нервной регуляции трофики [30]. Воздействуя на клеточное микроокружение, используя широкий спектр биологически активных веществ, возможно оказывать влияние на перечисленные эндогенные причины нарушения функциональной активности популяции стромы. Одним из способов подобного влияния может

являться трансплантируемая клеточная популяция стромальных клеток. Так, доказана способность стромальных клеток донора репопулировать ткань реципиента без образования рубцов (время наблюдения – 30 лет) [31].

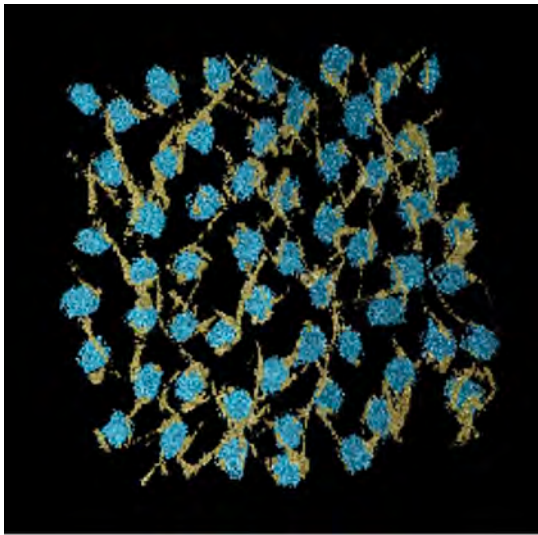
Было установлено, что нарушение функциональной активности кератоцитов приводит к изменению прозрачности роговицы [32]. Этот факт объясняется ролью кератоцитов в синтезе компонентов внеклеточного матрикса – коллагена и гликозаминогликанов; регуляцией постоянства водного и электролитного баланса ткани напрямую – реализуя клеточный мембранный транспорт веществ, электролитов и воды в ткань и из неё, и опосредованно – путём синтеза гидрофильных компонентов внеклеточного матрикса, которые «притягивают» молекулы воды [33]. Перечисленные процессы ответственны за создание строгой пространственно-упорядоченной структуры роговичной ткани, через которую проходит свет (процесс интерференции). Физическая причина на-

рушения прозрачности роговицы заключается в увеличении рассеивания света [34].

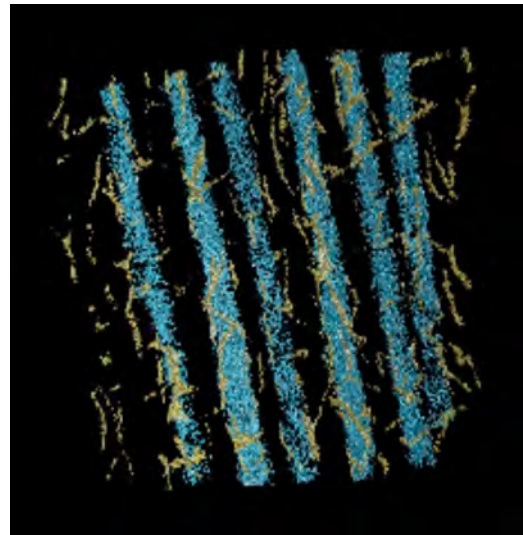
Можно выделить пять основных причин повышенного светорассеяния в непрозрачной роговице:

1. Изменение структуры коллагеновых волокон, нарушение их пространственного гексагонального расположения и/или утолщение фибрилл за счёт слияния

В здоровой прозрачной роговице коллагеновые волокна собираются в пучки, называемые фибриллами (ламеллами), которые имеют одинаковые размеры и строго ориентированы в пространстве относительно друг друга для минимизации рассеивания светового пучка. Такое выстраивание коллагеновых волокон в роговице обеспечивается благодаря гликозаминогликанам, которые выстраиваются вокруг фибрилл (рис. 4а, рис. 5а) и создают «мостики» между ними (рис. 4б, рис. 5б) – равные межфибрил-



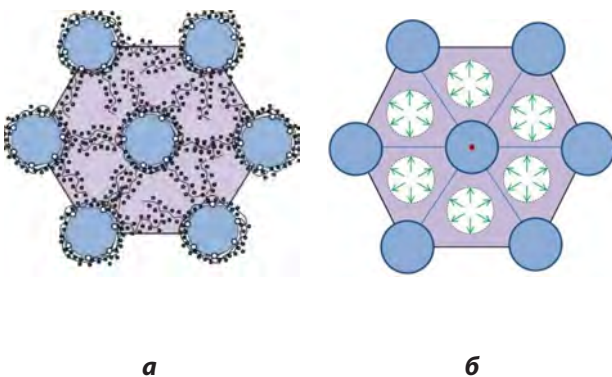
а



б

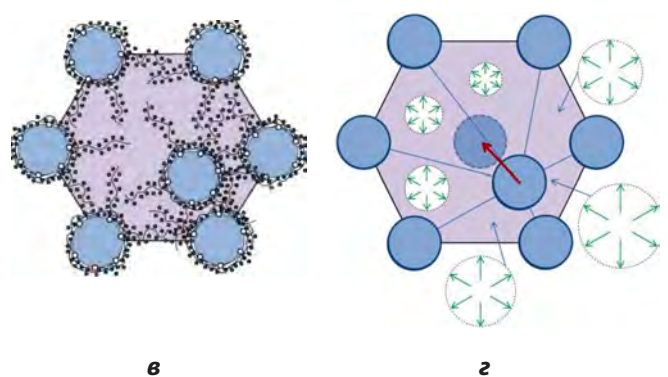
РИС. 4. Пространственная ориентация гликозаминогликанов и ламелл: **а** – гликозаминогликаны вокруг ламелл (обозначены короткими тонкими линиями); **б** – гликозаминогликаны в виде «мостиков» между ламеллами [35]

FIG. 4. Spatial orientation of glycosaminoglycans and lamellae: **а** – glycosaminoglycans around lamellae (indicated by short thin lines); **б** – glycosaminoglycans in the shape of “bridges” between the lamellae [35]



а

б



в

г

РИС. 5. Действие осмотического (**а**) и электростатического (**б**) давления при смещении коллагенового волокна (**в, г**) [36]

FIG. 5. The action of osmotic (**а**) and electrostatic (**б**) pressure at the displacement of the collagen fiber (**в, г**) [36]

лярные расстояния [35]. Поскольку гликозамоногликаны являются гидрофильными соединениями, они притягивают к себе молекулы воды и тем самым осуществляют свою функцию. При нарушении положения коллагенового волокна на него действуют силы осмотического и электростатического давления, возвращая волокно на своё место (рис. 5в, г) [36]. Строгую морфологическую структуру также обеспечивают равномерный диаметр фибрилл и их упорядоченная упаковка, что создаёт условия для прохождения светового пучка через роговицу к сетчатке глаза, т. е. реализует прозрачность роговичной ткани.

2. Трансформация кератоцитов в фибробласты и миофибробласты («активированные» клетки)

Ядра кератоцитов обладают высокими показателями светорассеяния. Поэтому роговица не была бы прозрачной, если бы в строме было большое количество клеток, чьи ядра не давали бы световому пучку проходить через данную соединительнотканную структуру глаза. Переход покоящихся кератоцитов в репаративный фенотип связан с глубокими молекулярными, биохимическими и морфологическими изменениями. Активированные клетки стромы имеют большую степень светорассеивания, тем самым напрямую способны вызывать нарушение прозрачности роговицы. Так, был установлен подтверждающий факт более высокого светорассеяния в популяции миофибробластов по сравнению с популяцией роговичных кератоцитов [37].

3. Синтез «активированными» клетками роговицы фиброзного непрозрачного внеклеточного белкового матрикса

В ответ на травму, оперативное вмешательство (после эксимерлазерной абляции при фоторефрактивной кератэктомии (ФРК)), влияние инфекционных агентов (вирусы/бактерии), а также при генетически обусловленных аномалиях и врождённых дистрофиях роговицы покоящиеся кератоциты становятся митотически активными и дифференцируются в фибробласты и миофибробласты, избыточно синтезируя новые белки, такие как фибронектин, α -SMA, тенасцин-С, коллаген III, IV типов, фибриллин 1 и другие, нарушающие организацию фибрилл, что приводит к помутнению роговицы [38]. Таким образом, основная причина нарушения прозрачности роговицы при активации клеточной популяции стромы заключается в изменении пространственного расположения коллагеновых фибрилл за счёт синтеза избыточного белкового матрикса. Фиброзный непрозрачный внеклеточный матрикс поддаётся реверсии с переходом к нормальной архитектуре роговичной стромы при «омоложении» клеточной популяции кератоцитов, что является важной стратегией для восстановления прозрачности ткани [39].

4. Отёк стромы роговицы

Отёк стромы приводит к помутнению роговичной ткани и может быть вызван различными факторами: при нарушении целостности барьерных структур – Боуменовы или Десцеметовой мембран – после травм, инфекцион-

ных воздействиях, остром кератоконусе (гидропсе), после оперативных вмешательств и инфекционных поражений, при дистрофиях роговицы. К механизмам «оводнения» роговицы можно также отнести нарушение клеточного трансмембранного или пассивного транспорта воды в строме роговицы и нарушение синтеза белковых гидрофильных компонентов межклеточного матрикса при изменениях функциональной активности кератоцита, патологиях мембранно-насосной функции эндотелиального (например, синдром Фукса) и эпителиального барьеров (рецидивирующая эрозия/язва роговицы).

5. Снижение уровня экспрессии кристаллинов кератоцитами стромы

Кристаллины – это водорастворимые белки с ферментативной активностью, экспрессируемые кератоцитами стромы, эпителиальными клетками роговицы и хрусталика [40], их роль заключается в антиоксидантной защите и снижении светорассеяния прозрачных структур глаза [41, 42]. Антиоксидантная роль кристаллинов роговицы – это защита от повреждения перекисными соединениями и свободными радикалами, в том числе образующимися от воздействия УФ-излучения. К кристаллинам роговицы относят семейство альдегиддегидрогеназ (ALDH3A1, -1A1, -2, -7A1, -1B1) и транскетолазу (ТКТ) [43]. При снижении концентрации кристаллинов в роговице (ТКТ и ALDH1A1) происходит увеличение рассеяния света, т. е. наблюдается снижение её прозрачности. Преобразование кератоцитов в репаративный фенотип (фибробласты и миофибробласты) в роговицах кроликов и быков приводит к потере кристаллинов, что подтверждено также в культуральных моделях [44].

Таким образом, помутнение роговицы может как вызываться одним из перечисленных патогенетических изменений, так и быть следствием комплексного воздействия нескольких факторов. Основные процессы регуляции тканевого гомеостаза заключаются прежде всего в поддержании строгой морфологической структуры роговицы.

РАЗДЕЛ 3. РОЛЬ ЦИТОКИНОВ И РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ В РЕПАРАЦИИ СТРОМЫ РОГОВИЦЫ

Стромальные стволовые клетки реализуют эффект восстановления ткани за счёт активного взаимодействия с микроокружением благодаря секреции цитокинов, факторов роста, нейропептидов и нейротрофинов [45].

Утрата функциональной активности стромальных кератоцитов – это утрата способности роговицы к самообновлению. В патогенезе многих патологических изменений роговицы, таких как постожоговые, посттравматические, эктатические состояния (в том числе кератоконус), особая роль отводится потере кератоцитов, вызванной увеличением апоптоза [46, 47]. Воспалительная теория является одним из современных объяснений данного процесса; теми же фундаментальными процессами на уров-

не клетки современные учёные пытаются объяснить снижение эластических свойств ткани роговицы при кератоконусе, т. е. воздействием на ткань свободных радикалов и продуктов окислительного стресса. Было установлено, что клетки стромы от пациентов с кератоконусом образуют метаболиты, которые свидетельствуют об окислительном стрессе клетки как в 2D-, так и в 3D-культурах [48]. Также сообщалось о замедлении прогрессирования эктазии у пациента с кератоконусом при использовании циклоспорина А, иммуномодулирующего агента [49].

Репаративный потенциал стромальных кератоцитов осуществлён благодаря его способности к обратному переходу в менее дифференцированный класс клеток (процесс обратной цитодифференцировки). Согласно современным представлениям, одной из причин перехода кератоцитов к активированному состоянию является воздействие на них TGF- β [50]. Высвобождение TGF- β происходит в неблагоприятных условиях, при повреждении эпителия и Боуменовской мембраны в результате травмы, оперативном вмешательстве, воздействии химических или инфекционных агентов либо при других патологических состояниях.

В разных органах, включая роговицу, члены семейства TGF- β являются ключевыми регуляторами фиброза и рубцевания посредством механизмов передачи сигналов (TGF- β /Smad-signaling) через сигнальную мПНК, а также с помощью других сигнальных путей [51, 52]. Семейство TGF- β состоит из трёх тесно связанных изоформ (β 1, β 2 и β 3), играющих различную роль в дифференцировке клеток и регенерации ткани. Так, TGF- β 1 и - β 2 опосредуют фиброз тканей и образование рубцов [53, 54], в отличие от TGF- β 3, который действует как ингибитор рубцовых процессов [55]. Те же механизмы взаимодействия определены и для роговицы. Так, TGF- β 1, TGF- β 2 способствуют рубцеванию стромы [56], в то время как TGF- β 3 доказанно восстанавливает прозрачность роговицы [57].

Комплекс из сигнальной молекулы и рецептора SDF1/CXCR4 (stromal cell derived factor-1) экспрессируется на фибробластах роговицы, участвуя в процессах регенерации. Роль комплекса заключается в организации экстрацеллюлярного матрикса, ускорении миграции мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [58], повышении экспрессии α -SMA в фибробластах, способствуя переходу фибробластов в миофибробласты, усиливая рубцевание ткани [59]. Высказано предположение об активации хоуминга стволовых клеток и секреции факторов роста через хемокиновую ось SDF-1/CXCR4 [60]. Экспрессия комплекса повышается в ответ на повышение концентрации гипоксического фактора HIF-1 α и механические повреждения, что приводит к усиленной миграции стволовых клеток посредством хемотаксиса. Установлена антигипоксическая роль комплекса, высвобождение которого происходит при радиационном воздействии на опухоль (иммунологический эффект) [61]. Повышение экспрессии комплекса SDF1/CXCR4 стимулирует эффективную миграцию стволовых клеток в зону повреждения, рекрутирование фибробластов, активацию процессов эндогенной репарации [62].

Промежуточные филаменты являются важными элементами цитоскелета для регуляции процессов, связанных с восстановлением тканей. Фибронектин является белком, высоко экспрессирующимся на фибробластах роговицы, который участвует в организации экстрацеллюлярного матрикса во время регенерации. Образует дорожки-каналы для ускорения миграции и создания плотной клеточной сети – распространения клеток к месту повреждения [63]. Виментин, как и десмин, – это промежуточные белковые нерастворимые филаменты цитоскелета стромальных кератоцитов, фибробластов и миофибробластов [64, 65], роль которых заключается в осуществлении перехода клеточной популяции стромы в миофибробласты [66], а также в ускорении процессов пролиферации и миграции фибробластов к месту «раны» [67], тем самым обеспечивая ремоделирование стромы после травм, оперативных вмешательств и др. Было установлено нарастание экспрессии виментина в стромальных клетках после оперативного вмешательства (ФРК) и снижение скорости миграции фибробластов к месту раны в строме у мышей при дефиците виментина [68]. Также установлено, что фибробласты и миофибробласты поддерживают более высокие уровни виментина, чем кератоциты [69].

Инсулиноподобный фактор роста IGF-1 (insulin-like growth factor 1) – белок семейства инсулиноподобных факторов роста, отвечает за поддержание гомеостаза роговицы; регулирует формирование коммуникационной сети между кератоцитами [70], пролиферацию и дифференцировку кератоцитов в фибробласты и миофибробласты при воспалительных процессах и повреждениях [71]. Т. Sarenac et al. показали, что IGF-1 увеличивает секрецию кератокана, люмикана и цитозольного кристаллина (ALDH3A1). IGF-1 снижает вероятность образования рубца в строме роговицы, увеличивая пролиферацию кератоцитов и оказывая влияние на заживление ран [72].

Провоспалительный цитокин – фактор некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor α) – и молекула межклеточной адгезии ICAM-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1) играют важную роль в регуляции воспалительных реакций при инфекционных и неинфекционных процессах (при аллергических реакциях) в роговице, экспрессируются на роговичных кератоцитах и фибробластах [73], обеспечивают миграцию макрофагов и лейкоцитов, регулируют процессы инфильтрации и активации полиморфно-ядерных нейтрофилов в очаге воспаления [74].

Эритропоэтин (EPO) – гликопротеин, который является активным гуморальным фактором, регулирующим рост и развитие различных клеток, тканей и систем органов. EPO не только стимулирует пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток-предшественников, но и обладает антиапоптотическим и антиоксидантным действиями, принимает участие в нейропротекции и ангиогенезе, повышает выживаемость клеток при гипоксии. Экспрессия EPO была показана на многих клетках, в том числе и роговичных кератоцитах мышей. Установлена связь данного цитокина с процессами неоваскулогенеза глаза [75]. Высокие уровни EPO были обнару-

жены в образцах стекловидного тела пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией, однако, роль ЕРО в здоровой роговице в значительной степени неизвестна.

Нейротрофические факторы (NGF, NT-3, BDNF) и рецепторы тирозинкиназ (TrkA, TrkB, TrkC и TrkE) – это ряд соединений, которые синтезируются в эпителии и строме роговицы, способны влиять друг на друга, активируя процессы миграции и пролиферации и способность регулировать функцию цитокинового обмена внутри роговицы [76].

Чувствительность роговицы обеспечивается глазной ветвью тройничного нерва, которая вызывает защитные рефлексы, такие как моргание и слезотечение. Роговичные нервы отходят от глазной ветви тройничного нерва и обеспечивают механическую, химическую, термочувствительность, а также выполняют трофическую функцию за счёт высвобождения питательных веществ и трофических факторов. Местные и системные состояния, обусловленные поражением тройничного нерва (такие как сахарный диабет, синдром сухого глаза, кератит при вирусе простого герпеса, нейротрофический кератит и др.), связаны с нарушением иннервации роговицы, снижением слезопродукции и нарушением заживления эпителиальной и стромальной раны. Роговичные нервы экспрессируют несколько нейромедиаторов, включая вещество Р (SP) – пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), ацетилхолин, холецистокинин, норадреналин, серотонин, нейропептид Y (NPY), вазоинтестинальный пептид (VIP), метэнкефалин, натрийуретический пептид мозга, вазопрессин и нейротензин. Среди них было продемонстрировано, что вещество SP способно модулировать пролиферацию и миграцию клеток роговицы и их адгезию. Было продемонстрировано использование вещества SP, связанного с IGF-1, а также фактора роста нервов (NGF, nerve growth factor), фактора роста эпидермиса (EGF, epidermis growth factor), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelium growth factor), семафоринов, нейротрофинов 3 и 4 (NT-3, NT-4), которые увеличивают скорость заживления роговицы и стимулируют адгезию эпителиальных клеток [77, 78]. И наоборот, стромальные и эпителиальные клетки роговицы, в свою очередь, выделяют нейропептиды, нейротрофины и ростовые факторы, влияющие на выживаемость, дифференциацию нервных волокон и их созревание, включая NGF, мозговой нейротрофический фактор (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF, ciliary neurotrophic factor), нейротрофины-3, -4, -5, EGF и нейротрофический фактор глиальных клеток (GDNF, glial cell-derived neurotrophic factor) [79, 80].

Таким образом, основные участники взаимодействия при репарации ткани роговицы на нейротрофическом уровне – клетки роговицы и глазная ветвь тройничного нерва. Они способны взаимно активировать друг друга для выработки цитокинов, нейропептидов, нейромедиаторов и факторов роста для улучшения трофики и ускорения заживления роговичной раны. Следовательно, все местные и системные состояния, приво-

дящие к повреждению чувствительного нерва роговицы, могут повлиять на это взаимодействие, вызывая нарушение репарации и скорости заживления роговицы. Новые соединения, способные стимулировать восстановление роговичного нерва, находятся на стадии разработки. Среди них глазные капли с факторами роста нервов (в том числе обогащённая тромбоцитами плазма – PRP (platelet-rich plasma)) оказались безопасными и эффективными для стимуляции заживления и улучшения чувствительности роговицы у пациентов с нейротрофическим кератитом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые знания о роли и взаимодействии экстрацеллюлярного матрикса и клеточной популяции стромы роговицы в сохранении тканевого гомеостаза важны для понимания тактики лечения многих заболеваний, целенаправленного влияния на процессы репарации соединительнотканной структуры. В последние годы значительно изменились представления об экстрацеллюлярном матриксе, который ранее рассматривался только с одной стороны – как архитектоника, поддержка клеток и тканей. Многочисленные исследования подтверждают, что экстрацеллюлярный матрикс – физиологически активный участник живой ткани, в ответственности которого лежат важнейшие процессы жизни клетки и ткани. В свою очередь, клеточная популяция стромы роговицы также перекрёстно несёт важнейшую роль в обеспечении физиологических восстановительных процессов ткани. Взаимно влияя друг на друга, соединительнотканые компоненты стромы создают строгую морфологическую структуру, обеспечивающую главное свойство роговой оболочки глаза – прозрачность.

Перспективным альтернативным способом устранения роговичной слепоты является терапия стволовыми клетками, которая носит этиотропный характер, благодаря активации различных сигнальных путей к регенерации ткани, решая две первоочередных задачи: восполнение утраченной популяции кератоцитов и восстановление её функциональной роли (наработка экстрацеллюлярного матрикса, синтез цитокинов, факторов роста, нейропептидов и др.). Понимание современных анатомо-физиологических основ строения роговицы, описанные в данном литературном обзоре, помогут приблизиться к изучению данной темы с целью определения «точек приложения» потенциальных терапевтических агентов.

Благодаря обратной связи между клеточными элементами и их микросредой, эволюционирующей в процессе развития тканей, формируется уникальный молекулярный состав экстраклеточного матрикса, оказывающий мощное влияние на биохимические и биофизические процессы в клетках и определяющий клеточно-матриксные (эпителио-стромальные) взаимодействия. Термин «гомеостаз роговицы» объединяет целый комплекс межклеточных и межмолекулярных взаимодействий, изучение которых с точки зрения основных

процессов нервно-гуморальной регуляции необходимо для качественного влияния извне на процессы восстановления роговичной ткани.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственных заданий Министерства науки и образования Российской Федерации № 10210609088973 и Министерства здравоохранения Российской Федерации № 121072800029-0.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Robaei D, Watson S. Corneal blindness: A global problem. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014; 42(3): 213-214. doi: 10.1111/ceo.12330
- Stramer BM, Zieske JD, Jung JC, Austin JS, Fini ME. Molecular mechanisms controlling the fibrotic repair phenotype in cornea: Implications for surgical outcomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003; 44(10): 4237-4246. doi: 10.1167/iovs.02-1188
- Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. Global survey of corneal transplantation and eye banking. *JAMA Ophthalmol*. 2016; 134: 167-173. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776
- Young RD, Knupp C, Pinali C, Png KM, Ralphs JR, Bushby AJ, et al. Three-dimensional aspects of matrix assembly by cells in the developing cornea. *Proc Nat Acad Sci U S A*. 2014; 111(2): 687-692. doi: 10.1073/pnas.1313561110
- Ремингтон Л.Э. *Клиническая анатомия и физиология зрительной системы*. М.: ИД «Городец»; 2020. [Remington LE. *Clinical anatomy and physiology of the visual system*. Moscow: Gorodets; 2020. (In Russ.)].
- Nishida T. Commanding roles of keratocytes in health and disease. *Cornea*. 2010; 29(1): S3-S6. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181f2d578
- Carlson EC, Liu CY, Chikama T, Hayashi Y, Kao CW, Birk DE, et al. Keratocan a cornea-specific keratan sulfate proteoglycan is regulated by lumican. *J Biol Chem*. 2005; 280(27): 25541-25547. doi: 10.1074/jbc.M500249200
- Kao WW, Liu CY. Roles of lumican and keratocan on corneal transparency. *Glycoconjugate J*. 2002; 19(4-5): 275-285. doi: 10.1023/A:1025396316169
- Leung BK, Bonanno JA, Radke CJ. Oxygen-deficient metabolism and corneal edema. *Prog Retin Eye Res*. 2011; 30(6): 471-492. doi: 10.1016/j.preteyeres.2011.07.001
- Fini ME. Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Prog Retin Eye Res*. 1999; 18(4): 529-551. doi: 10.1016/s1350-9462(98)00033-0
- Fukuda K. Corneal fibroblasts: Function and markers. *Exp Eye Res*. 2020; 200: 108229. doi: 10.1016/j.exer.2020.108229
- Jester JV, Petroll WM, Barry PA, Cavanagh HD. Expression of alpha-smooth muscle (alpha-SM) actin during corneal stromal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36: 809-819
- Fini ME. Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Prog Retin Eye Res*. 1999; 18(4): 529-551. doi: 10.1016/s1350-9462(98)00033-0
- Scott SG, Jun AS, Chakravarti S. Sphere formation from corneal keratocytes and phenotype specific markers. *Exp Eye Res*. 2011; 93(6): 898-905. doi: 10.1016/j.exer.2011.10.004
- Sherwin T, Green CR. Stromal wound healing. *Corneal Surgery: Theory, Technique and Tissue*. Mosby Elsevier; 2009: 45-56. doi: 10.1016/B978-0-323-04835-4.50012-4
- Zieske JD. Extracellular matrix and wound healing. *Curr Opin Ophthalmol*. 2001; 12: 237-241. doi: 10.1097/00055735-200108000-00001
- Funderburgh JL, Mann MM, Funderburgh ML. Keratocyte phenotype mediates proteoglycan structure. A role for fibroblasts in corneal fibrosis. *J Biol Chem*. 2003; 278(46): 45629-45637. doi: 10.1074/jbc.M303292200
- Karamichos D, Guo XQ, Hutcheon AE, Zieske JD. Human corneal fibrosis: An *in vitro* model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010; 51: 1382-1388. doi: 10.1167/iovs.09-3860
- Chaurasia SS, Kaur H, de Medeiros FW, Smith SD, Wilson SE. Dynamics of the expression of intermediate filaments vimentin and desmin during myofibroblast differentiation after corneal injury. *Exp Eye Res*. 2009; 89: 133-139. doi: 10.1016/j.exer.2009.02.022
- Saikia P, Crabb J, Dibbin L, Madison J, Juszcak BW, Geeng-Fu J, et al. Quantitative proteomic comparison of myofibroblasts derived from bone marrow and cornea. *Sci Rep*. 2020; 10: 16717. doi: 10.1038/s41598-020-73686-w
- Сандбо Н., Смольянинова Л.В., Орлов С.Н., Дулин Н.О. Регуляция дифференцировки и функционирования миофибробластов сигнальной системой цитоскелета. *Успехи биологической химии*. 2016; 56(13): 259-282. [Sandbo N, Smolyaninova LV, Orlov SN, Dulin NO. Regulation of differentiation and functioning of myofibroblasts by the signaling system of the cytoskeleton. *Biological Chemistry Reviews*. 2016; 56(13): 259-282. (In Russ.)].
- Cherng S, Jenny Y, Hongbao M. Alpha-smooth muscle actin (α -SMA). *J Am Sci*. 2008; 4: 7-9. doi: 10.3390/jcm10245804
- Maltseva O, Folger P, Zekaria D, Petridou S, Masur SK. Fibroblast growth factor reversal of the corneal myofibroblast phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42: 2490-2495.
- Kureshi AK, Funderburgh JL, Daniels JT. Human corneal stromal stem cells exhibit survival capacity following isolation from stored organ-culture corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55(11): 7583-7588. doi: 10.1167/iovs.14-14448
- Nagyimihaly RM, Moe MC, Petrovski G. Isolation and culture of corneal stromal stem cells. *Methods Mol Biol*. 2020; 2145: 1-15. doi: 10.1007/978-1-0716-0599-8_1
- Lync AP, O'Sullivan F, Ahearne M. The effect of growth factor supplementation on corneal stromal cell phenotype *in vitro* using a serum-free media. *Exp Eye Res*. 2016; 151: 26-37. doi: 10.1016/j.exer.2016.07.015
- Musselmann K, Kane B, Alexandrou B, Hassell JR. Stimulation of collagen synthesis by insulin and proteoglycan accumulation by ascorbate in bovine keratocytes *in vitro*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47: 5260-5266. doi: 10.1167/iovs.06-0612
- Matthyssen S, Van den Bogerd B, Dhuhghaill SN, Koppen C, Zakaria N. Corneal regeneration: A review of stromal replacements. *Acta biomaterialia*. 2018; 69: 31-41. doi: 10.1016/j.actbio.2018.01.023
- Adijanto J, Philp N. The SLC16A family of monocarboxylate transporters (MCTs) – physiology and function in cellular metabolism, pH homeostasis, and fluid transport. *Curr Topics Membr*. 2012; 70: 275-312. doi: 10.1016/B978-0-12-394316-3.00009-0

30. Щемелёва О.А., Рожко А.А., Рожко Ю.И. *Дистрофии роговицы: практическое пособие для врачей*. Гомель: ГУ «РНПЦ ПМ и ЭЧ»; 2020. [Shemeleva OA, Rozhko AA, Rozhko Yul. *Corneal dystrophy: A practical guide for physicians*. Gomel; 2020. (In Russ.)].
31. Wollensak G, Green WR. Analysis of sex-mismatched human corneal transplants by fluorescence in situ hybridization of the sex-chromosomes. *Exp Eye Res.* 1999; 68: 341. doi: 10.1006/exer.1998.0611
32. Hassell JR, Birk DE. The molecular basis of corneal transparency. *Exp Eye Res.* 2010; 91(3): 326-335. doi: 10.1016/j.exer.2010.06.021
33. Lingling Z, Matthew C, Anderson L, Chia-Yang L. The role of corneal stroma: A potential nutritional source for the cornea. *J Nat Sci.* 2017; 3(8): e428.
34. Meek KM, Knupp C. Corneal structure and transparency. *Prog Retin Eye Res.* 2015; 49: 1-16. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.07.001
35. Lewis PN, Pinali C, Young RD, Meek KM, Quantock AJ, Knupp C. Structural interactions between collagen and proteoglycans are elucidated by three-dimensional electron tomography of bovine cornea. *Structure.* 2010; 18: 239-245. doi: 10.1016/j.str.2009.11.013
36. Cheng X, Pinsky PM. Mechanisms of self-organization for the collagen fibril lattice in the human cornea. *J R Soc Interface.* 2013; 10: 20130512. doi: 10.1098/rsif.2013.0512
37. Jester JV, Budge A, Fisher S, Huang J. Corneal keratocytes: Phenotypic and species differences in abundant protein expression and *in vitro* light-scattering. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46: 2369e2378. doi: 10.1167/iovs.04-1225
38. Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res.* 2015; 49: 17-45. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.07.002
39. Kumar A, Kumar Y, Funderburgh M, Du Y. Regenerative therapy for the cornea. *Prog Retin Eye Res.* 2021; 87: 101011. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101011
40. Jester JV. Corneal crystallins and the development of cellular transparency. *Semin Cell Dev Biol.* 2008; 19(2): 82-93. doi: 10.1016/j.semcdb.2007.09.015
41. Pei Y, Reins RY, McDermott AM. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) 3A1 expression by the human keratocyte and its repair phenotypes. *Exp Eye Res.* 2006; 83(5): 1063-1073. doi: 10.1016/j.exer.2006.05.011
42. Stramer BM, Fini ME. Uncoupling keratocyte loss of corneal crystallin from markers of fibrotic repair. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45: 4010e4015. doi: 10.1167/iovs.03-1057
43. Stagos D, Chen Y, Cantore M, Jester JV, Vasilioi V. Corneal aldehyde dehydrogenases: Multiple functions and novel nuclear localization. *Brain Res Bull.* 2010; 81(2-3): 211-218. doi: 10.1016/j.brainresbull.2009.08.017
44. Stramer BM, Cook JR, Fini ME, Taylor A, Obin M. Induction of the ubiquitin-proteasome pathway during the keratocyte transition to the repair fibroblast phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42: 1698e1706.
45. Mitchell R, Mellows B, Sheard J, Antonioli M, Kretz O, Chambers D, et al. Secretome of adipose-derived mesenchymal stem cells promotes skeletal muscle regeneration through synergistic action of extracellular vesicle cargo and soluble proteins. *Stem Cell Res.* 2019; 10: 116. doi: 10.1186/s13287-019-1213-1
46. Cheung MY, McGhee NJ, Sherwin T. A new perspective on the pathobiology of keratoconus: interplay of stromal wound healing and reactive species-associated processes. *Clin Exp Optometry.* 2013; 96(2): 188-196. doi: 10.1111/cxo.12025
47. Kim WJ, Rabinowitz YS, Meisler DM, Wilson SE. Keratocyte apoptosis associated with keratoconus. *Exp Eye Res.* 1999; 69(5): 475-481. doi: 10.1006/exer.1999.0719
48. Karamichos D, Hutcheon AE, Rich CB, Trinkaus-Randall V, Asara JM, Zieske JD. *In vitro* model suggests oxidative stress involved in keratoconus disease. *Sci Rep.* 2014; 9(4): 4608. doi: 10.1038/srep04608
49. Shetty R, Ghosh A, Lim RR, Subramani M, Mihir K, Reshma AR, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9 and inflammatory cytokines in keratoconus patients is inhibited by cyclosporine A. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015; 56: 738-750. doi: 10.1167/iovs.14-14831
50. West-Mays A, Dwivedi J. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006; 38(10): 1627-1631. doi: 10.1016/j.biocel.2006.03.010
51. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF-beta: The master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016; 12(6): 325-338. doi: 10.1038/nrneph.2016.48
52. Walton KL, Johnson KE, Harrison CA. Targeting TGF-beta mediated SMAD-signaling for the prevention of fibrosis. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 461. doi: 10.3389/fphar.2017.00461
53. Saika S, Yamanaka O, Okada Y, Tanaka S, Miyamoto T, Sumioka T, et al. TGFβ in fibroproliferative diseases in the eye. *Front Biosci (Schol Ed).* 2009; 1: 376-390. doi: 10.2741/S32
54. Gilbert RW, Vickaryous MK, Vilorio-Petit AM. Signalling by transforming growth factor β isoforms in wound healing and tissue regeneration. *J Dev Biol.* 2016; 4(2): 21. doi: 10.3390/jdb4020021
55. Karamichos D, Hutcheon AE, Zieske JD. Transforming growth factor-β3 regulates assembly of a non-fibrotic matrix in a 3D corneal model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2011; 5(8): e228-e238. doi: 10.1002/term.429
56. de Oliveira RC, Tye G, Sampaio LP, Shiju TM, DeDreu JR, Menko AS, et al. TGF β1 and TGF β2 proteins in corneas with and without stromal fibrosis: Delayed regeneration of apical epithelial growth factor barrier and the epithelial basement membrane in corneas with stromal fibrosis. *Exp Eye Res.* 2021; 202: 108325. doi: 10.1016/j.exer.2020.108325
57. Weng L, Funderburgh JL, Khandaker I, Geary ML, Yang T, Basu R, et al. The anti-scarring effect of corneal stromal stem cell therapy is mediated by transforming growth factor TGF β3. *Eye Vis.* 2020; 7(1): 52. doi: 10.1186/s40662-020-00217-z
58. Liu L, Yu Q, Lin J, Lai X, Cao W, Du K, et al. Hypoxia-inducible factor-1α is essential for hypoxia-induced mesenchymal stem cell mobilization into the peripheral blood. *Stem Cells Dev.* 2011; 20(11): 1961-1971. doi: 10.1089/scd.2010.0453
59. Kim K, Park S, Lee S, Kim J. Upregulated stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) expression and its interaction with CXCR4 contribute to the pathogenesis of severe pterygia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013; 54(12): 7198. doi: 10.1167/iovs.13-13044
60. Tang Q, Luo C, Lu B, Fu Q, Yin H, Qin Z, et al. Thermosensitive chitosan-based hydrogels releasing stromal cell derived factor-1 alpha recruit MSC for corneal epithelium regeneration. *Acta Biomater.* 2017; 1(61): 101-113. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.001
61. Eckert F, Schilbach K, Klumpp L, Bardoscia L, Sezgin EC, Schwab M, et al. Potential role of CXCR4 targeting in the context of radiotherapy and immunotherapy of cancer. *Front Immunol.* 2018; 9: 3018. doi: 10.3389/fimmu.2018.03018

62. Li X, He X, Yin Y, Wu R, Tian B, Chen F. Administration of signalling molecules dictates stem cell homing for in situ regeneration. *J Cell Mol Med*. 2017; 21(12): 3162-3177. doi: 10.1111/jcmm.13286
63. Miron-Mendoza M, Vazquez D, García-Rámila N, Hikaru R, Matthew Petroll I, Matthew Petroll W. Coupling of fibrin reorganization and fibronectin patterning by corneal fibroblasts in response to PDGF BB and TGF β 1. *Bioengineering (Basel)*. 2020; 7(89): 1-18. doi: 10.3390/bioengineering7030089
64. Chaurasia SS, Kaur H, de Medeiros FW, Smith SD, Wilson SE. Dynamics of the expression of intermediate filaments vimentin and desmin during myofibroblast differentiation after corneal injury. *Exp Eye Res*. 2009; 89(2): 133-139. doi: 10.1016/j.exer.2009.02.022
65. Nagymihaly R, Vereb Z, Facska A, Morten C, Petrovski G. Effect of isolation technique and location on the phenotype of human corneal stroma-derived cells. *Stem Cells International*. 2017; 2017: 1-12. doi: 10.1155/2017/9275248
66. Shyam SC, Rayne RL, Lakshminarayanan R, Mohan RR. Nanomedicine approaches for corneal diseases. *J Funct Biomater*. 2015; 6: 277-298. doi: 10.3390/jfb6020277
67. Das SK, Gupta I, Cho YK, Zhang X, Uehara H, Muddana SK, et al. Vimentin knockdown decreases corneal opacity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55(7): 4030-4040. doi: 10.1167/iovs.13-13494
68. Helfand BT, Mendez MG, Murthy SN, Shumaker DK, Grin B, Mahammad S, et al. Vimentin organization modulates the formation of lamellipodia. *Mol Biol Cell*. 2011; 22(8): 1274-1289. doi: 10.1091/mbc.E10-08-0699
69. Bargagna-Mohan P, Lei L, Thompson A, Shaw C, Kasahara K, Inagaki M, et al. Vimentin phosphorylation underlies myofibroblast sensitivity to withaferin A *in vitro* and during corneal fibrosis. *PLoS One*. 2015; 10(7): e0133399. doi: 10.1371/journal.pone.0133399
70. Berthaut A, Mirshahi P, Benabbou N, Elodie D, Aureliou A, Amu T, et al. Insulin growth factor promotes human corneal fibroblast network formation in vitro. *Invest Ophthalmol. Vis Sci*. 2011; 52: 7647-7653. doi: 10.1167/iovs.10-5625
71. Stuard WL, Titone R, Danielle M, Robertson DM. The IGF/Insulin-IGFBP axis in corneal development, wound healing, and disease. *Front Endocrinol*. 2020; 11: 24. doi: 10.3389/fendo.2020.00024
72. Sarenac T, Trapecar M, Gradisnik L, Rupnik MS, Pahor D. Single-cell analysis reveals IGF-1 potentiation of inhibition of the TGF- β /Smad pathway of fibrosis in human keratocytes in vitro. *Sci Rep*. 2016; 6: 34373. doi: 10.1038/srep34373
73. Okada N, Fukagawa K, Takano Y. The implications of the upregulation of ICAM-1/VCAM-1 expression of corneal fibroblasts on the pathogenesis of allergic keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005; 46(12): 4512-4518. doi: 10.1167/iovs.04-1494
74. Saika S, Ikeda K, Yamanaka O, Flanders KC, Okada Y, Miyamoto T, et al. Loss of tumor necrosis factor potentiates transforming growth factor-mediated pathogenic tissue response during wound healing. *Am J Pathol*. 2006; 168(6): 1848-1860. doi: 10.2353/ajpath.2006.050980
75. Luo L, Kaminoh Y, Chen HY, Zhang MN, Zhang K, Ambati BK. Expression of erythropoietin and its receptor in normal and neovascularized murine corneas induced by alkali burns. *Int J Ophthalmol*. 2009; 2(1): 30-33.
76. Lingtao Y, Friedrich E, Hans E. Neurotrophic factors in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 692-702.
77. Nishida T, Chikama T, Morishige N, Yanai R, Yamada N, Saito J. Persistent epithelial defects due to neurotrophic keratopathy treated with a substance p-derived peptide and insulin-like growth factor 1. *Jpn J Ophthalmol*. 2007; 51: 442-447. doi: 10.1007/s10384-007-0480-z
78. Yanai R, Nishida T, Chikama T, Morishige N, Yamada N, Sonoda KH. Potential new modes of treatment of neurotrophic keratopathy. *Cornea*. 2015; 34(11): S121-S127. doi: 10.1097/ICO.0000000000000587
79. Mastropasqua L, Massaro-Giordano G, Nubile M, Sacchetti M. Understanding the pathogenesis of neurotrophic keratitis: the role of corneal nerves. *J Cell Physiol*. 2017; 232: 717-724. doi: 10.1002/jcp.25623
80. Chen H, Zhang J, Dai Y, Xu J. Nerve growth factor inhibits TLR3-induced inflammatory cascades in human corneal epithelial cells. *J Inflamm*. 2019; 26(16): 27. doi: 10.1186/s12950-019-0232-0

Сведения об авторах

Краснер Кристина Юрьевна – врач-офтальмолог, Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: kityli@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1921-8072>

Повещенко Ольга Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9956-0056>

Суровцева Мария Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: mfelde@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4752-988X>

Трунов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель научного отдела, Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: trunov1963@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7592-8984>

Ким Ирина Иннокентьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: kii5@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7380-2763>

Бондаренко Наталия Анатольевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: bond802888@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8443-656X>

Черных Валерий Вячеславович – доктор медицинских наук, профессор, директор, Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: chernych@mntk.nsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7623-3359>

Information about the authors

Kristina Yu. Krasner – Ophthalmologist, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: kityli@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1921-8072>

Olga V. Poveshchenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Cell Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: poveschenkoov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9956-0056>

Maria A. Surovtseva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: mfelde@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4752-988X>

Aleksandr N. Trunov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: trunov1963@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7592-8984>

Irina I. Kim – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Cell Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: kii5@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7380-2763>

Natalia A. Bondarenko – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Cell Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bond802888@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8443-656X>

Valery V. Chernykh – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: chernych@mntk.nsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7623-3359>