

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-82-90

УДК 611.018.7:611.841:616+611.013:5913.591.4

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Н. Н. Шевлюк, А. В. Радченко, А. А. Стадников, 2019

Структурно-функциональные основы физиологической и репаративной регенерации тканей роговицы

Н. Н. Шевлюк, А. В. Радченко, А. А. Стадников

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия

Статья посвящена обзору и анализу научной литературы по вопросам физиологических и репаративных гистогенезов в роговице. Наиболее уязвимой при травмах передних отделов глаза является роговица. Поэтому чрезвычайно важное значение приобретает оценка процессов ее регенерации. В тканях роговицы имеются стволовые клетки, однако их регенерационный потенциал зависит от многих внутренних и внешних факторов. Наиболее значима роль стволовых клеток в регенерации переднего эпителия роговицы. Он постоянно обновляется путем митотического деления стволовых клеток роговичного фенотипа, расположенных в роговичном участке лимба и перилимбальной зоны. Клетки других слоев роговицы – кератоциты собственного вещества и эндотелиоциты делятся редко. Кератоциты становятся способными к пролиферации только под воздействием дополнительных факторов, а эндотелий восстанавливается путем растяжения и миграции неповрежденных эндотелиоцитов, и за счет внутриклеточной регенерации. Основной причиной нарушения репаративной регенерации тканей роговицы является синдром лимбно-клеточной недостаточности, обусловленный дефицитом или дисфункцией стволовых клеток лимба. Недостаток стволовых клеток какого-либо типа тканей может привести к нарушению регенерации травмированной роговицы в результате опережающей пролиферации миофибробластов и секреции внеклеточного матрикса, что способствует формированию соединительнотканного рубца и помутнению роговицы. Повреждение лимбальной области существенно нарушает репаративные гистогенезы в роговице. Нормальная эпителизация роговицы возможна при сохранности не менее половины площади лимбальной области.

Ключевые слова: глаз, роговица, травма, регенерация, лимб.

The Structural and Functional Basis of Physiological and Reparative Regeneration of Corneal Tissues

© N. N. Shevlyuk, A. V. Radchenko, A.A. Stadnikov, 2019

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

The article is devoted to the review and analysis of scientific literature on physiological and reparative histogenesis in the cornea. The most vulnerable in injuries of the anterior parts of the eye is the cornea. Therefore, it is extremely important to assess the processes of regeneration of the cornea. There are stem cells in the corneal tissues, but their contribution to its regeneration is different and depends on many internal and external factors. The most prominent role and importance of stem cells in the regeneration of the cornea is manifested in the regeneration of the anterior epithelium. It is constantly updated by mitotic division of corneal phenotype stem cells located in the corneal area of the limb and perilymbal zone. Cells of other layers of the cornea – keratocytes own substance and endothelial cells are rarely divided. Keratocytes are capable of proliferation under the influence of additional factors, and the endothelial repareret by stretching and migration of the endothelial cells intact and at the expense of intracellular regeneration. The main reason for the violation of reparative regeneration of corneal tissue is limbal cell insufficiency syndrome, due to deficiency or dysfunction of stem cells of the limb. The lack of stem cells of any type of tissue can lead to impaired regeneration of the injured cornea as a result of advanced proliferation of myofibroblasts and secretion of the extracellular matrix, which contributes to the formation of connective scar and corneal opacity. Damage to the limbal region significantly disrupts reparative histogenesis in the cornea. Normal epithelialization of the cornea is possible with the preservation of at least half of the area of the limbal region.

Key words: eye, cornea, trauma, regeneration, limb.

*Автор для переписки:

Шевлюк Николай Николаевич
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Советская, 6, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация.

E-mail: k_histology@orgma.ru

*Corresponding author:

Nikolai Shevlyuk
Orenburg State Medical University, ul. Sovetskaya, 6, Orenburg, 460000, Russian Federation

E-mail: k_histology@orgma.ru

Роговица защищает ткани глаза от воздействия различных факторов внешней среды и, являясь прозрачной частью наружной оболочки глаза, принимает участие в проведении, преломлении и проекции света на сетчатку. При этом роговица является наиболее уязвимой структурой глазного яблока [15, 28, 44].

Роговица является многокомпонентной структурой, в ее составе содержится несколько видов тканей. Передний эпителий роговицы представлен многослойным плоским неороговевающим эпителием, расположенным на базальной мембране (боуменовой оболочке). Защитная функция роговицы осуществляется благодаря плотным межклеточным контактам клеток многослойного плоского эпителия и его непрерывному обновлению [4, 15]. При нарушении пролиферации и дифференциации эпителиальных клеток может возникать помутнение роговицы.

Собственное вещество роговицы, обеспечивающее ее прочность, образовано плотной оформленной соединительной тканью пластинчатого типа. В составе этого единого соединительнотканного комплекса, являющегося основой роговицы, Н.П. Омеляненко и соавт. [9] выделяют 4 слоя. Основу собственного вещества роговицы составляют плоские коллагеновые волокна (стромальные пластины). Задний эпителий роговицы представлен однослойным плоским эпителием (эндотелием) передней камеры глаза [4, 5, 15, 28, 34, 35]. Эндотелий образован плоскими полигональной формы клетками, которые обладают способностью сокращаться и растягиваться при перепадах внутриглазного давления. При этом клетки не теряют межклеточных контактов. Эндотелий расположен на базальной мембране (задней пограничной мембране или десцеметовой оболочке).

Вопросы физиологической и репаративной регенерации тканей роговицы, а также вопросы управления гистогенетическими процессами в роговице глаза привлекали и привлекают внимание исследователей уже много лет. Показаны роль и значимость для регенерации роговицы различных внешних и внутренних факторов (гуморальные, иммунные, нервные), роль и значимость межклеточных взаимоотношений в этих процессах [3, 6].

Среди патологий органа зрения ведущее место занимают воспалительные заболевания и травматические повреждения глаз. По данным отечественной литературы, на долю травм глаза приходится более 10% в структуре всей патологии органа зрения, при этом ожоги составляют 8%. Из всех повреждений глаз на долю роговицы приходится до 80% [5, 12, 19]. Ожоги, вызванные различными физическими (термическими и радиационными) и химическими (щелочами и кислотами) факторами, значительно различаются механизмами повреждения тканей глаза, но имеют сходную клиническую картину, обусловленную в основном тяжестью повреждения [32]. Поэтому чрезвычайно важное значение приобретает восстановление целостности роговицы [3, 6, 13, 14, 52].

Так, ожоговая травма, вызывающая повреждение эпителия роговицы, сопровождается значительным нарушением обменных процессов во всей роговой оболочке. Возникает дефицит витаминов, ферментов, глутатиона, нуклеиновых кислот, липопротеинов, гликогена, угнетаются тканевое дыхание и окислительно-восстановительные процессы [12, 19, 43]. Кроме того, при этом перестает секретироваться цитокин, угнетающий продукцию кератоцитами коллагеназы, а поврежденный эпителий начинает продуцировать коллагеназу. В результате изменения содержания коллагена в соединительной ткани снижается репаративная способность стромы роговицы и возникают дегенерация базальной (боуменовой) мембраны и изъязвление роговицы [19].

Вторичные патологические изменения возникают на расстоянии от травмированной ткани и значительно ухудшают первичные нарушения в роговице. Так, в ожоговом процессе большое значение имеют иммунопатологические сдвиги, обусловленные аутоиммунизацией антигенами пораженных тканей [12, 19].

Регенерация переднего эпителия роговицы

Для обновляющихся тканей, к которым относится передний эпителий роговицы, характерно поддержание равновесия скорости размножения и гибели клеток (в том числе и в результате апоптоза). Принято считать, что клетки базального камбиального резерва для многослойного плоского неороговевающего эпителия роговицы локализованы в его базальном слое на всем протяжении роговицы. Однако оказалось, что стволовые (камбиальные) клетки эпителия роговичного фенотипа расположены в ростковой зоне эпителия в роговичном участке лимба и перилимбальной зоны. Впервые на это указали Davenger et al. [26]. Затем эта закономерность была подтверждена в ряде других исследований [3, 19, 41, 43, 47, 49]. Однако и в настоящее время в ряде публикаций авторы продолжают придерживаться устаревшего взгляда на этот вопрос, считая источником обновления переднего эпителия роговицы клетки базального слоя всей роговицы [4].

Физиологическая регенерация переднего эпителия роговицы осуществляется постоянными размножениями камбиальных элементов и их дифференцировкой и центростремительной миграцией от периферии к зрительной оси [15, 47].

Полное обновление переднего эпителия происходит в течение 5–7 дней. Было показано соответствие количества отшелушивания эпителиоцитов их образованию из клеток лимбальной зоны, что подтвердило значимость базальных клеток лимба в поддержании целостности поверхностного эпителия рого-

вицы в норме [42, 43, 45].

Клетки базального слоя практически всего переднего эпителия роговицы (за исключением лимбальной зоны и прилегающей к ней периферической зоны роговицы) являются очень редко делящимися клетками, имеющими ограниченную пролиферативную активность. Только 2% базальных клеток роговицы обладает подобной активностью. Супрабазальные эпителиальные клетки, являясь высокодифференцированными, не способны к размножению [2, 7]. Митотической активностью (хотя и более низкой, чем у клеток лимбальной области) обладают клетки, локализующиеся в периферических отделах роговицы. После деления эти клетки также смещаются в центростремительном направлении [2, 16] и после терминальной дифференцировки становятся неспособными к дальнейшим митозам [16]. То есть, клетки базального слоя роговицы принимают только небольшое участие в ее регенерации, которая в основном зависит от стволовых клеток ростковой зоны лимба [2, 25, 30, 50, 56].

Это было подтверждено при культивировании эпителиоцитов роговицы. Клетки лимбальной области в условиях культур обладают высокопролиферативными возможностями, тогда как клетки из центральной зоны роговицы не поддаются культивированию [1, 3, 10, 18, 23, 28, 39]. Таким образом, поверхностный эпителий роговицы обновляется преимущественно за счет пролиферации клеток базального слоя лимбальной области.

Лимб является уникальной ограниченной нишей для стволовых клеток роговичного эпителия. Наибольшее количество этих клеток содержится в зонах палисада Вогта [10, 25]. Стволовые клетки ростковой зоны лимба считаются ответственными за самообновление и регенерацию роговицы в течение всей жизни [8, 22, 26, 42, 49]. Тесная связь с сосудами обеспечивает лимбальным стволовым клеткам постоянный доступ к факторам выживания. Особое значение придается волнистой сети сосудов, формирующих палисады Вогта, благодаря которой создается тесная связь сосудов с эпителием и тем самым клетки лимба обеспечиваются питательными веществами и цитокинами. Важную роль для обеспечения существования лимбальных стволовых клеток играет также базальная мембрана лимба, имеющая волнообразные переплетения с коллагеновыми фибриллами собственного вещества роговицы. Все это в совокупности образует своеобразную нишу для стволовых клеток, предохраняя их от травм и изменений микроокружения [8, 39, 40, 51]. Стволовые клетки лимба отличаются от других эпителиальных клеток роговицы экспрессией особых видов кератинов [53].

Клетки всех слоев эпителия перилимбальной зоны роговицы кролика содержат в

цитоплазме пигментные включения (гранулы меланина), которые маркируют клетки перилимбальной зоны и являются на гистологических препаратах контролем усиления «лимбальной активности» [2, 39, 40].

Установлено, что эпителизация поврежденной поверхности обеспечивается непрерывным перемещением клеток из ростковой зоны лимба: вначале дефект замещается «сползанием» слоев сохранившихся эпителиоцитов, при этом изменяется форма последних; затем происходит миграция из клеток лимба, далее – пролиферация этих клеток [2]. Кроме того, фибробласты лимба выделяют антиапоптотические факторы, а именно, белок, препятствующий апоптозу и обеспечивающий клеточное выживание [56, 57].

Результаты исследований свойств локализованных в лимбе стволовых клеток эпителия роговицы позволили подойти к разработке способов восстановления эпителия роговицы при его повреждении с использованием трансплантации культуры стволовых клеток роговицы [38, 54, 55, 56, 58]. Разработаны методики культивирования лимбальных стволовых клеток для последующего введения суспензии этих клеток с целью создания условий для обеспечения органотипической регенерации роговицы после ее повреждения [58].

Регенерация собственного вещества роговицы

Кератоциты собственного вещества роговицы способны секретировать коллагены I, III и V типов, кератосульфат и другие компоненты межклеточного вещества в соединительной ткани. В составе популяции кератоцитов содержатся и стволовые клетки, которые при повреждении роговицы участвуют в ее регенерации [48, 60].

Кератоциты собственного вещества роговицы при ее повреждении могут дифференцироваться в миофибробласты, активизация секреторной функции которых приводит к усиленному синтезу коллагеновых белков и формируют соединительнотканый рубец, наличие которого препятствует пролиферации эпителиоцитов переднего эпителия роговицы [16, 28, 35, 48, 60, 61].

В репаративной регенерации собственного вещества роговицы большое значение придается трансформации кератоцитов, находящихся в покое, в активные фибробласты. Следует отметить, что кератоциты стромы роговицы способны к пролиферации только при дополнительном воздействии различных факторов [16, 61].

Имеются не бесспорные данные о том, что источником миофибробластов могут быть не только резидентные фибробласты, но также и клетки эпителия роговицы после эпителиально-мезенхимального перехода, клетки

эндотелия сосудов и перициты [16, 61].

В последние десятилетия опубликовано много работ, посвященных вопросам эпителиально-мезенхимального перехода [11, 33, 24, 37 и др.]. Появились работы, в которых стали высказывать мнение о том, что многие процессы патологических гистогенезов есть не что иное, как эпителиально-мезенхимный переход. Так, ряд авторов [48, 60] связывает репаративные гистогенезы в роговице, приводящие к ее фиброзу, с явлением эпителиально-мезенхимального перехода и указывает, что любые повреждения роговицы стимулируют эпителиально-мезенхимальный переход эпителиоцитов роговицы, что может нарушить ее нормальную регенерацию и привести к фиброзу [48, 60].

Анализируя явления эпителиально-мезенхимального перехода, ряд авторов [16, 60, 61] указывают, что в этом случае эпителиальные клетки роговицы теряют связь с базальной мембраной, мигрируют, прекращают синтез эпителиальных маркеров (Е-кадгерина, окклюдина) и начинают экспрессировать мезенхимальные маркеры (альфа-гладкомышечный актин, виментин, N-кадгерин).

Некоторые авторы [11, 37] полагают, что существуют несколько типов процессов, которые в литературе обозначают общим термином «эпителиально-мезенхимальный переход». По их мнению, существуют эпителиально-мезенхимальный переход *sensu stricto* (с полным переходом эпителиальных клеток в мезенхимные), имеющий место в эмбриогенезе, и эпителиально-мезенхимальный переход в воспалительном процессе, в канцерогенезе. Chaffer C.L. et al. [24] считают, что под влиянием различных факторов может происходить как изменение скорости эпителиально-мезенхимального перехода, так и противоположный ему процесс (мезенхимально-эпителиальный переход). Здесь следует отметить, что многие аспекты концепции эпителиально-мезенхимального перехода являются дискуссионными и нуждаются в дополнительной аргументации. Основные обоснования существования эпителиально-мезенхимального перехода базируются на косвенных иммуноцитохимических данных (снижение экспрессии эпителиальных маркеров, повышение экспрессии маркеров тканей мезенхимного генеза). И многие исследователи подвергают сомнению саму концепцию существования эпителиально-мезенхимального перехода. Так, авторы данной статьи полагают, что в ряде случаев процессы, трактуемые как эпителиально-мезенхимальный переход, могут быть результатом других процессов. Например, может быть, в этом случае имеет место усиление пролиферации и цитодифференцировки клеток другого генеза, всегда существующих в эпителиальных тканях

(макрофаги, лимфоциты, меланоциты)? В качестве одного из свойств клеток, образующихся в результате эпителиально-мезенхимного перехода, называют их способность синтезировать компоненты экстрацеллюлярного матрикса. Но экстрацеллюлярный матрикс синтезируют и эпителиоциты (например, компоненты базальной мембраны). Структура, напоминающая базальную мембрану, формируется вокруг кардиомиоцитов и миоимплантов.

Регенерация эндотелия роговицы

Эндотелиоциты роговицы, хотя и способны к делению, но находятся обычно в стадии G1 клеточного цикла, и у человека деление этих клеток происходит крайне редко. По данным ряда авторов [16, 34], стволовые клетки локализованы в эндотелии роговицы по периферии (на границе с трабекулярной сетью) в виде небольших скоплений вокруг телец Генле – Гассана (выступов периферической части задней пограничной пластинки роговицы в переднюю камеру глаза). Эти клетки пролиферируют очень редко, после пролиферации постепенно смещаются к центру роговицы, формируя радиальные ряды клеток на ее периферии [16, 34]. Выявлено, что повреждения роговицы стимулируют пролиферативную активность ее эндотелиоцитов. Однако, в основном целостность эндотелия после повреждения восстанавливается путем растяжения и миграции неповрежденных эндотелиоцитов [16, 28, 35].

Регенерация переднего эпителия роговицы в условиях лимбальной недостаточности

Под лимбальной недостаточностью понимается нарушение регенерации поверхностного эпителия роговицы в результате дефицита или дисфункции стволовых лимбальных клеток [18, 59]. Лимбально-клеточная недостаточность может возникать, например, при ожоговой травме, после оперативных вмешательств, при длительном ношении контактных линз, синдроме сухого глаза и ряде других заболеваний глаз [18]. При этом имеет значение не только уменьшение количества стволовых лимбальных клеток, но и ухудшение микроокружения из-за недостатка факторов роста эпителия, трансформирующего фактора роста и нейротрофических ростковых факторов [17]. Синдром лимбальной клеточной недостаточности гистологически проявляется васкуляризацией окологимбальной зоны роговицы, нарушением структуры эпителия в зоне лимба, хроническим воспалением роговицы.

Имеются различия в регенерации (эпителизации) роговицы в норме и при лимбальной клеточной недостаточности [8]. При обширных поражениях лимба наблюдается неадекватная регенерация структур роговицы

(замедление эпителизации дефекта роговицы, развитие рецидивирующих эрозий и изъязвлений). При регенерации в условиях лимбальной клеточной недостаточности новообразованный эпителий роговицы содержит от 1 до 6 слоев клеток, при этом их размеры меньше, чем в норме. Базальная мембрана эпителия в этих условиях повреждена частично, либо полностью. Местами базальные эпителиоциты перемешаны с фиброзными волокнами стромы. Во всех слоях роговицы расположены новообразованные сосуды [16]. Результатом такой регенерации является васкуляризация роговицы, что ведет к снижению остроты зрения.

При частичной лимбальной недостаточности нормальная эпителизация роговицы происходит только в секторе неповрежденно-го лимба [13, 14, 19, 30, 45, 56, 58, 59].

Установлено, что дефект перилимбальной зоны значительно замедляет процесс репаративной регенерации роговицы, длительность и завершенность которого зависит от размера и локализации дефекта лимба. При отсутствии дефекта перилимбальной зоны эпителизация роговицы наступает наиболее быстро – в подавляющем большинстве случаев через несколько суток, и прозрачность роговицы сохраняется у всех экспериментальных животных. Регенерация роговицы без ее помутнения возможна при повреждении менее половины окружности зоны лимба. Дефект перилимбальной зоны, занимающий половину ее окружности, задерживает эпителизацию до 6–8 суток, а дефект, превышающий ее половину, еще удлиняет период эпителизации (более 10 суток) и приводит к нарушению прозрачности роговицы, в связи с пролиферацией эпителия конъюнктивы и развитием соединительной ткани. В описанных исследованиях была использована экспериментальная модель механической травмы роговицы кролика – дезэпителизация всей ее поверхности до боуеновой мембраны по оригинальной методике с одновременным иссечением участков различного размера роговочной зоны лимба [2, 17].

Имеются данные о том, что вращение кровеносных сосудов в собственное вещество роговицы при ее ожоговых повреждениях может быть связано не только с активизацией пролиферативной активности эпителия и соединительной ткани конъюнктивы, но также и с возникающей при этом ишемией роговицы, что усиливает образование эндотелиального фактора роста, который индуцирует рост сосудов со стороны интактного лимба в прозрачный (бессосудистый) участок роговицы и приводит к формированию сосудистого бельма. При этом сосудистое бельмо может быть покрыто эпителием роговочного фенотипа [20].

Нарушение регенерации травмированной роговицы может заключаться в опережающей пролиферации и цитодифференцировке клеток фибробластического дифферона (фибробластов и миофибробластов) и активации синтеза внеклеточного матрикса, что приводит в дальнейшем к формированию соединительнотканного рубца и помутнению роговицы [48, 60, 61, 62]. Считается, что такое развитие фиброза определяется нарушением баланса между провоспалительными и противовоспалительными медиаторами, а также отсутствием достаточного количества стволовых клеток данного типа [16].

Работы, посвященные вопросам морфофункциональных особенностей регенерации роговицы при повреждении только лимбальной зоны являются немногочисленными [13, 14, 20, 21].

Так, Чурашовым С.В. и соавт. [20] при моделировании тяжелого щелочного ожога (аппликацией раствора NaOH) только роговицы, только лимбальной зоны и их сочетания изучены особенности заживления поврежденных в условиях окрашивания раневой поверхности 1% раствором флюоресцеина натрия и выборочной цифровой фоторегистрации. Установлено наличие наиболее неблагоприятных исходов заживления при совместном повреждении роговицы и лимба, менее неблагоприятное – при повреждении только роговицы. Тяжелый щелочной ожог только лимба при сохранности его в секторе не менее 90, хотя и сопровождается вращением сосудов в роговицу, заканчивается восстановлением полной эпителизации ее поверхности. При тяжелых ожогах роговицы протяженностью до половины ее площади без повреждения лимба эпителизация наступает почти в 6 раз быстрее, чем при таких же ожогах и роговицы, и лимба.

Показано [13, 14, 20, 21], что если повреждено не более половины лимбальной области, то наступает полная эпителизация роговицы. При более массивном повреждении лимбальной области восстановление эпителия роговицы происходит с участием эпителия конъюнктивы. Однако это не исключает возможности частичной сохранности на роговице эпителия роговочного фенотипа.

Имеются также данные о том, что у некоторых животных стволовые клетки роговицы наряду с лимбом могут быть диффузно рассеяны в составе всего эпителия роговицы [20, 41].

По данным большинства исследователей, нормальная эпителизация роговицы возможна при сохранности не менее половины площади лимба [20, 58, 59 и др.].

При полной лимбальной недостаточности эпителизация роговицы возможна только за счет конъюнктивального эпителия [13, 14,

21, 36]. Восстановление роговицы за счет конъюнктивы глаза приводит к развитию птеригиума, а после тяжелых повреждений с тотальным разрушением ростковой зоны лимба развивается паннус, и в этом случае роговица всегда пронизывается сосудами [19, 20, 38].

Кроме того, лимбальная клеточная недостаточность способствует развитию незаживающих дефектов роговицы после ожогов [25, 27], а также является препятствием для приживления трансплантатов роговицы, так как сопровождается нарушением структуры эпителия, васкуляризацией и хроническим воспалением роговицы [29, 30, 31, 45, 56, 57].

Заключение

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о том, что во всех тканях роговицы имеются стволовые клетки, но их вклад в регенерацию роговицы зависит от многих внутренних и внешних факторов. Наиболее рельефно роль и значимость стволовых клеток в регенерации роговицы проявляется при регенерации переднего эпителия роговицы. Результаты регенерации зависят от баланса между медиаторами воспаления и их антагонистами, от численности стволовых клеток, действия многих регулирующих факторов, обеспечивающих их пролиферацию и цитодифференцировку. И наиболее тяжелые последствия для регенерации роговицы в частности и для зрения в целом отмечены при дефиците и нарушении функционирования лимбальных стволовых клеток при лимбальной клеточной недостаточности.

Результаты морфологических и экспериментальных исследований, опубликованные в научной литературе, выявили фундаментальные закономерности репаративных гистогенезов в тканях роговицы, которые способствовали разработке современных методов лечения многих заболеваний роговицы, в частности, лимбопластики и цитотерапии культивированными лимбальными стволовыми клетками, то есть трансплантации стволовых лимбальных клеток, выращенных на биологических подложках.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Борзенко С.А., Онищенко Н.А., Тонаева Х.Д., Комах Ю.А., Ковшун Е.В., Струсова Н.А. Со-трансплантация ММСК-подобных клеток лимба способствует местной иммунокоррекции и прозрачному приживлению трансплантата роговицы при кератопластике высокого риска. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014; 16(1):12–31 [Borzenok SA, Onishchenko NA, Tonaeva HD, Comach JA, Kovshun EV, Strusova NA. Cotransplantation MMSC-like cells of the limb contributes to local immune and transparent engraftment of the transplant of the cornea when keratoplasty is high risk. Vestnik of Transplantology and artificial organs. 2014; 16(1):12–31] (in Russian).
2. Гололобов В.Г., Гайворовский И.В., Деев Р.В., Рудько А.С., Эллиниди В.Н., Аникеева Н.В., Сухинин М.В. Репаративная регенерация многослойного эпителия роговицы: биотехнологический потенциал. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008; 3(4):55–9 [Gololobov VG, Gaivorovskii IV, Deev RV, Rud'ko AS, Jellinidi VN, Anikeeva NV, Suhinin MV. Reparative regeneration of multilayered corneal epithelium: biotechnological potential. Cell Transplantology and tissue engineering. 2008; 3(4):55–9] (in Russian).
3. Гундорова Р.А., Ченцова Е.В. Клеточные технологии в офтальмологии: 10-летний опыт экспериментальных исследований и перспективы в клинике. Российский офтальмологический журнал. 2008; 1(1):45–9 [Gundorova RA, Chentsova EV. Cellular technologies in ophthalmology: 10 years of experience in experimental studies and prospects in the clinic. Russian ophthalmological journal. 2008; 1(1):45–9] (in Russian).
4. Зуева Л.В. Орган зрения. В кн. Руководство по гистологии. 2-е издание, исправл. Т. 1. Санкт-Петербург: СпецЛит. 2011: 755 – 769 [Zueva LV. Organ of vision. Guide to histology. 2nd edition, corrected. Vol. 1. St. Petersburg: Spetslit. 2011: 755–69] (in Russian).
5. Кадышев В.В., Кадышева Л.В. Применение стимуляторов регенерации роговицы при травматических повреждениях. Клиническая офтальмология. 2011; 12(4): 153–5 [Kadyshev VV, Kadysheva LV. The use of stimulators of corneal regeneration in traumatic injuries. Clinical ophthalmology. 2011; 12(4):153–5] (in Russian).
6. Каныков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Яхина О.М. Клинико-морфологические аспекты регенерации роговицы после химических ожогов. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2014; 5:29–31 [Kanyukov VN, Stadnikov AA, Trubina OM, Yakhina OM. Clinical and morphological aspects of corneal regeneration after chemical burns. Bulletin of the Ural medical academic science. 2014; 5:29–31] (in Russian).
7. Милудин Е.С. Экспериментальная модель недостаточности региональных стволовых клеток роговичного эпителия. Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2006; 9(49):219–26 [Miludin ES. Experimental model of insufficiency regional stem cells of the corneal epithelium. Vestnik SamGU. Natural science series. 2006; 9(49):219–26] (in Russian).
8. Николаева Л.Р., Ченцова Е.В. Лимбальная клеточная недостаточность. Вестник офтальмологии. 2006; 122(3):43–6 [Nikolaeva LR, Chentsova EV. Limbic cellular insufficiency. Journal of ophthalmology. 2006; 122(3):43–6] (in Russian).
9. Омеляненко Н.П., Ковалев А.В., Сморгчов М.М., Мишина Е.С. Структура собственного вещества роговицы глаза человека. Морфология. 2017; 151(3): 93 [Omelyanenko NP, Kovalev AV, Smorchkov MM, Mishina ES. The Structure of the own substance of the cornea of the human eye.

- Morphology. 2017; 151(3):93] (in Russian).
10. Попандопуло А.Г., Кавелина А.С., Иванова О.Н., Дрожжина Г.И. Роль лимбальных клеток в регенерации роговицы. Таврический медико-биологический вестник. 2013; 16(61):158–60 [Popandopulo AG, Kavelina AS, Ivanova ON, Drozhzhina GI. The role of limbal cells in the regeneration of the cornea. Tavrisheskiy mediko-biologicheskii vestnik. 2013; 16(61):158–60] (in Russian).
 11. Пучинская М.В. Эпителиально-мезенхимальный процесс в норме и патологии. Архив патологии. 2015; 77(1):75–83 [Puchinskaya MV. Epithelial-mesenchymal process in norm and pathology. Archives of pathology. 2015; 77(1):75–83] (in Russian).
 12. Пучковская Н.А., Якименко С.А., Непомнящая В.М. Ожоги глаз. М.: Медицина, 2001: 272 [Puchkovskaya NA, Yakimenko SA, Nepomnyashchaya VM. Eye burns. Moscow: Medicine, 2001] (in Russian).
 13. Радченко А.В., Шевлюк Н.Н., Кирилличев А.И. Морфофункциональная характеристика репаративных гистогенезов в роговице кролика при ожоговом повреждении лимбальной области. Вестник Оренбургского государственного университета. 2014; 13(174): 85–7 [Radchenko AV, Shevlyuk NN, Kirilichev AI. Morphofunctional characteristic of reparative histogenesis in the cornea of a rabbit with burn injury of the limbal region. Bulletin of the Orenburg state University. 2014; 13(174):85–7] (in Russian).
 14. Радченко А.В., Шевлюк Н.Н., Кирилличев А.И. Морфофункциональная характеристика репаративных гистогенезов тканей роговицы кролика после термического повреждения лимбальной области. Морфология. 2013; 144(5):108–9 [Radchenko VA, Shevlyuk NN, Kirilichev AI. Morphofunctional characteristic of reparative histogenesis of the tissues of the cornea of a rabbit after heat damage to the limbal region. Morphology. 2013; 144(5):108–9] (in Russian).
 15. Рапуано К. Дж. Роговица: пер. с англ. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 320 [Rapuano KDzh. Cornea: per. s angl. Moscow: GEOTAR-Media, 2010] (in Russian).
 16. Смирский В.Н. Регенерация и фиброз роговицы. Онтогенез. 2014; 45(5):314–25 [Simirskiy VN. Regeneration and fibrosis of corneal tissues. Ontogenez. 2014; 45(5):314–25] (in Russian).
 17. Сухинин М.В., Гололобов В.Г. Реактивные изменения переднего эпителия роговицы при повреждении ростковой зоны лимба глаза. Фундаментальные проблемы гистологии, гистогенез и регенерация тканей. СПб.: ВМедА, 2004: 490–5 [Sukhinin MV, Gololobov VG. Reactive changes in the anterior epithelium of the cornea with damage to the germinal zone of the limb of the eye. Fundamental problems of histology, histogenesis and tissue regeneration. SPb.: VMedA, 2004: 490–495] (in Russian).
 18. Фролов А.Н. Влияние фраксипарина на динамику воспалительного процесса и регенерацию роговицы при различных заболеваниях роговицы и лимба. Офтальмологический журнал. 2009; 6:54–7 [Frolov AN. Fraxiparina influence on the dynamics of the inflammatory process and the regeneration of the cornea in various diseases of the cornea and limbus. Ophthalmological journal. 2009; 6:54–7] (in Russian).
 19. Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз – состоящие проблемы и новые подходы. СПб.: ВМедА, 2008: 135 [Chernysh VF, Boyko EV. Eye burns – the state of the problem and new approaches. SPb.: VMedA, 2008: 135] (in Russian).
 20. Чурашов С.В., Черныш В.Ф., Рудько А.С., Злобин И.А. Особенности заживления тяжелых щелочных ожогов только роговицы, только лимбальной зоны, а также их сочетания в эксперименте. Офтальмология. 2012; 4–2(59):214–7 [Churashov SV, Chernysh VF, Rud'ko AS, Zlobin IA. Features of healing of heavy alkaline burns only corneas, only a limbalny zone, and also their combination in experiment. Ophthalmology. 2012; 4–2(59):214–7] (in Russian).
 21. Шевлюк Н.Н., Радченко А.В. Морфофункциональные преобразования в роговице кролика при ожоговом повреждении лимба. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018; 7(1):82–6 [Shevlyuk NN, Radchenko AV. Morphofunctional transformations in the rabbit cornea in case of burn injury of the limb. Journal of anatomy and histopathology. 2018; 7(1):82–6] (in Russian).
 22. Ahmad S, Koli S, Li D-Q, de Paiva CS, Pryzborski S, Dimmick I, et al. A Putative Role for RHAMM/HMMR as a Negative Marker of Stem Cell-Containing Population of Human Limbal Epithelial Cells. Stem Cells. 2008 Jun;26(6):1609–19. doi: 10.1634/stemcells.2007-0782
 23. Burillon C, Huot L, Justin V, Nataf S, Chapuis F, Decullier E, et al. Cultured Autologous Oral Mucosal Epithelial Cell Sheet (CAOMECS) Transplantation for the Treatment of Corneal Limbal Epithelial Stem Cell Deficiency. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2012 Mar 13;53(3):1325–31. doi: 10.1167/iovs.11-7744
 24. Chaffer CL, Thompson EW, Williams ED. Mesenchymal to Epithelial Transition in Development and Disease. Cells Tissues Organs. 2007;185(1–3):7–19. doi: 10.1159/000101298
 25. Daniels JT, Dart JK, Tuft SJ, Khaw PT. Corneal stem cells in review. Wound Repair and Regeneration. 2001 Nov;9(6):483–94. doi: 10.1046/j.1524-475x.2001.00483.x
 26. Davanger M, Evensen A. Role of the Pericorneal Papillary Structure in Renewal of Corneal Epithelium. Nature. 1971 Feb;229(5286):560–1. doi: 10.1038/229560a0
 27. Daya SM, Watson A, Sharpe JR, Giledi O, Rowe A, Martin R, et al. Outcomes and DNA analysis of ex vivo expanded stem cell allograft for ocular surface reconstruction. Ophthalmology. 2005 Mar;112(3):470–7. doi: 10.1016/j.optha.2004.09.023
 28. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. Journal of Cataract & Refractive Surgery. 2011 Mar;37(3):588–98. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037
 29. Dua HS, Gomes JA., King AJ, Maharajan VS. The amniotic membrane in ophthalmology. Survey of Ophthalmology. 2004 Jan;49(1):51–77. doi: 10.1016/j.survophthal.2003.10.004
 30. Dua HS, Joseph A, Shanmuganathan VA, Jones RE. Stem cell differentiation and the effects of deficiency. Eye. 2003 Nov;17(8):877–85. doi: 10.1038/sj.eye.6700573
 31. Dua HS, Azuara-Blanco A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency.

- British Journal of Ophthalmology. 1999 Apr 1;83(4):414–9. doi: 10.1136/bjo.83.4.414
32. Gupta N, Kalaivani M, Tandon R. Comparison of prognostic value of Roper Hall and Dua classification systems in acute ocular burns. *British Journal of Ophthalmology*. 2010 Aug 30;95(2):194–8. doi: 10.1136/bjo.2009.173724
 33. Hay ED. Theory for epithelial-mesenchymal transformation based on the fixed cortex cell motility model. *Cell Motility and the Cytoskeleton*. 1989;14(4):455–7. doi: 10.1002/cm.970140403
 34. He Z, Campolmi N, Gain P, Ha Thi BM, Dumollard J-M, Duband S, et al. Revisited Microanatomy of the Corneal Endothelial Periphery: New Evidence for Continuous Centripetal Migration of Endothelial Cells in Humans. *STEM CELLS*. 2012 Oct 22;30(11):2523–34. doi: 10.1002/stem.1212
 35. Joyce NC. Proliferative capacity of corneal endothelial cells. *Experimental Eye Research*. 2012 Feb;95(1):16–23. doi: 10.1016/j.exer.2011.08.014
 36. Keivyon KR, Tseng SCG. Limbal Autograft Transplantation for Ocular Surface Disorders. *Ophthalmology*. 1989 May;96(5):709–23. doi: 10.1016/s0161-6420(89)32833-8
 37. Klymkowsky MW, Savagner P. Epithelial-Mesenchymal Transition. *The American Journal of Pathology*. 2009 May;174(5):1588–93. doi: 10.2353/ajpath.2009.080545
 38. Kolli S, Ahmad S, Mudhar HS, Meeny A, Lako M, Figueiredo FC. Successful Application of Ex Vivo Expanded Human Autologous Oral Mucosal Epithelium for the Treatment of Total Bilateral Limbal Stem Cell Deficiency. *STEM CELLS*. 2014 Jul 15;32(8):2135–46. doi: 10.1002/stem.1694
 39. Li W, Hayashida Y, Chen Y-T, Tseng SC. Niche regulation of corneal epithelial stem cells at the limbus. *Cell Research*. 2007 Jan;17(1):26–36. doi: 10.1038/sj.cr.7310137
 40. Li C, Yin T, Dong N, Dong F, Fang X, Qu Y-L, et al. Oxygen tension affects terminal differentiation of corneal limbal epithelial cells. *Journal of Cellular Physiology*. 2011 Jun 9;226(9):2429–37. doi: 10.1002/jcp.22591
 41. Majo F, Rochat A, Nicolas M, Jaoudé GA, Barraud Y. Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. *Nature*. 2008 Oct 1;456(7219):250–4. doi: 10.1038/nature07406
 42. Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, et al. Location and Clonal Analysis of Stem Cells and Their Differentiated Progeny in the Human Ocular Surface. *The Journal of Cell Biology*. 1999 May 17;145(4):769–82. doi: 10.1083/jcb.145.4.769
 43. Pfister RR. Corneal stem cells disease: concepts, categorization and treatment by auto- and homo-transplantations of limbal stem cells. *CLAO J*. 1994; 20(1):64–72.
 44. Piatigorsky J. Enigma of the Abundant Water-Soluble Cytoplasmic Proteins of the Cornea. *Cornea*. 2001 Nov;20(8):853–8. doi: 10.1097/00003226-200111000-00015
 45. Puangsricharern V, Tseng SCG. Cytologic Evidence of Corneal Diseases with Limbal Stem Cell Deficiency. *Ophthalmology*. 1995 Oct;102(10):1476–85. doi: 10.1016/s0161-6420(95)30842-1
 46. Rama P, Bonini S, Lambiase A, Golisano O, Paterna P, De Luca M, et al. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. 1. Transplantation. 2001 Nov;72(9):1478–85. doi: 10.1097/00007890-200111150-00002
 47. Ramirez BE, Victoria DA, Murillo GM, Herreras JM, Calonge M. In vivo confocal microscopy assessment of the corneal limbal stem cell niche before and after biopsy for cultivated limbal epithelial transplantation to restore corneal epithelium. *Histopathol*. 2014; 30(2):45–51. doi: 10.14670/HH-30.183. Epub 2014 Jul 30
 48. Saika S, Yamanaka O, Sumioka T, Miyamoto T, Miyazaki K, Okada Y, et al. Fibrotic disorders in the eye: Targets of gene therapy. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2008 Mar;27(2):177–96. doi: 10.1016/j.preteyeres.2007.12.002
 49. Schermer A. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *The Journal of Cell Biology*. 1986 Jul 1;103(1):49–62. doi: 10.1083/jcb.103.1.49
 50. Schlötzer-Schrehardt U, Kruse FE. Identification and characterization of limbal stem cells. *Experimental Eye Research*. 2005 Sep;81(3):247–64. doi: 10.1016/j.exer.2005.02.016
 51. Shortt AJ, Secker GA, Munro PM, Khaw PT, Tuft SJ, Daniels JT. Characterization of the Limbal Epithelial Stem Cell Niche: Novel Imaging Techniques Permit In Vivo Observation and Targeted Biopsy of Limbal Epithelial Stem Cells. *Stem Cells*. 2007 Jun;25(6):1402–9. doi: 10.1634/stemcells.2006-0580
 52. Stoiber J, Muss WH, Pohla-Gubo G, Ruckhofer J, Grabner G. Histopathology of Human Corneas After Amniotic Membrane and Limbal Stem Cell Transplantation for Severe Chemical Burn. *Cornea*. 2002 Jul;21(5):482–9. doi: 10.1097/00003226-200207000-00009
 53. Thomas PB, Liu Y-H, Zhuang FF, et al. Identification of Notch-1 expression in the limbal basal epithelium. *Mol. Vis. Sci*. 2007; 1(13): 337–44.
 54. Trounson A, McDonald C. Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges. *Cell Stem Cell*. 2015 Jul;17(1):11–22. doi: 10.1016/j.stem.2015.06.007
 55. Tsai RJ-F, Li L-M, Chen J-K. Reconstruction of Damaged Corneas by Transplantation of Autologous Limbal Epithelial Cells. *New England Journal of Medicine*. 2000 Jul 13;343(2):86–93. doi: 10.1056/nejm200007133430202
 56. Tseng SCG. Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. *Molecular Biology Reports*. 1996;23(1):47–58. doi: 10.1007/bf00357072
 57. Tseng SCG, Kruse FE, Merritt J, Li D-Q. Comparison between serum-free and fibroblast-cocultured single-cell clonal culture systems: Evidence showing that epithelial anti-apoptotic activity is present in 3T3 fibroblast-conditioned media. *Current Eye Research*. 1996 Jan;15(9):973–84. doi: 10.3109/02713689609017643
 58. Tseng SCG, Liang L, Sheha H. Limbal stem cell transplantation: new progresses and challenges. *Eye*. 2008; 1(8):34–8.
 59. Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: Current concepts in pathophysiology and therapy. *Survey of Ophthalmology*. 1997 Jan;41(4):275–313. doi: 10.1016/s0039-6257(96)00007-0
 60. Wilson SE. Corneal myofibroblast biology and pathobiology: Generation, persistence, and transparency. *Experimental Eye Research*. 2012 Jun;99:78–88. doi: 10.1016/j.exer.2012.03.018

61. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature Medicine*. 2012 Jul;18(7):1028–40. doi: 10.1038/nm.2807
62. Zeisberg M, Kalluri R. Cellular Mechanisms of Tissue Fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2013 Feb;304(3):216–25. doi: 10.1152/ajpcell.00328.2012

Поступила в редакцию 22.02.2019
Принята в печать 8.05.2019

Received 22.02.2019
Accepted 8.05.2019

Для цитирования: Шевлюк Н.Н., Радченко А.В., Стадников А.А. Структурно-функциональные основы физиологической и репаративной регенерации тканей роговицы. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2019; 8(2): 82–90. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-82-90

For citation: Shevlyuk N.N., Radchenko A.V., Stadnikov A.A. The structural and functional basis of physiological and reparative regeneration of corneal tissues. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(2): 82–90. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-82-90
