Вестник офтальмологии
2023, Т. 139, №5, с. 121-128
https://doi.org/10.17116/oftalma2023139051121

Russian Annals of Ophthalmology =
Vestnik Oftal'mologii 2023, vol. 139, №5, pp. 121-128
https://doi.org/10.17116/oftalma2023139051121

Регенерация роговицы: есть ли место для тканей перинатального происхождения?

© Ю.А. РОМАНОВ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. акад. Е.И. Чазова» Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В обзоре рассмотрены основные свойства роговицы и механизмы ее физиологической регенерации и репарации в ответ на повреждение. Описаны наиболее перспективные методы лечения, направленные на стимуляцию лимбальных стволовых клеток и основанные на применении как нативных тканей перинатального происхождения, так и мезенхимальных стромальных клеток ткани пупочного канатика и бесклеточных терапевтических продуктов на их основе.

Ключевые слова: *роговица, регенерация, амниотическая мембрана, сыворотка пуповинной крови, пупочный канатик, мезенхимальные стромальные клетки.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ:
Романов Ю.А. — https://orcid.org/0000-0003-3748-6860
Автор, ответственный за переписку: Романов Юрий Аскольдович — e-mail: yromanov2010@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Романов Ю.А. Регенерация роговицы: есть ли место для тканей перинатального происхождения? *Вестник офтальмологии*. 2023;139(5):121–128. https://doi.org/10.17116/oftalma2023139051121

Corneal regeneration: is there a place for tissues of perinatal origin?

© YU.A. ROMANOV

National Medical Research Center of Cardiology Named After Academician E.I. Chazov, Moscow, Russia

ABSTRACT

The article reviews the main properties of the cornea and the mechanisms of its physiological regeneration and repair in response to damage and describes the most promising methods of treatment aimed at stimulating limbal stem cells and based on the use of native tissues of perinatal origin, umbilical cord mesenchymal stromal cells, and cell-free therapeutic products.

Keywords: *cornea, regeneration, amniotic membrane, umbilical cord blood serum, umbilical cord, mesenchymal stromal cells.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR:
Romanov Yu.A. — https://orcid.org/0000-0003-3748-6860
Corresponding author: Romanov Yu.A. — e-mail: yromanov2010@yandex.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Romanov YuA. Corneal regeneration: is there a place for tissues of perinatal origin? *Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2023;139(5):121–128. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/oftalma2023139051121

По данным Всемирной организации здравоохранения, от нарушений зрительных функций во всем мире страдают свыше 285 млн человек, из которых 39 млн полностью лишены зрения [1]. Одно из лидирующих мест (более 10 млн человек) среди причин потери зрения занимают поражения роговицы, уступая по частоте возникновения слепоты только катаракте и глаукоме.

Не удивительно, что к роговице приковано пристальное внимание не только практических врачей-офтальмологов, но и специалистов смежных с медициной специальностей, включая клеточных биологов **(табл. 1)**.

Анатомия роговицы

Роговица — уникальная и высокоорганизованная многослойная система, образующая внешнюю прозрачную часть глаза [2—4]. Основные функции роговицы включают оптическую (обеспечивающую беспрепятственное прохождение света к сетчатке) и барьерную (защита более глубоких структур глаза от механического и химического повреждения).

Наружный, контактирующий с окружающей средой слой роговицы сформирован четырьмя-шестью слоями плоского неороговевающего эпителия, внутри которых клетки соединены с помощью плотных

Таблица 1. **Публикационная активность в области исследований роговицы (по данным pubmed.ncbi.nlm.nih.gov по состоянию на июнь 2022 г.)**

Table 1. **Publication activity in the field of corneal research (according to *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov* as of June 2022)**

Ключевые слова	Число публикаций
Cornea	89 925
Corneal epithelial	16 949
Corneal injury	9540
Corneal regeneration	7162
Corneal (limbal) stem cells	3877
Corneal (limbal) stem cell deficiency	1288

контактов. Базальный слой эпителиальных клеток покоится на боуменовой мембране, отделяющей его от стромального слоя. Наружный слой эпителия омывается слезной жидкостью, защищающей его от высыхания и различных патогенов. Еще одной функцией эпителиальных клеток является взаимодействие с нейронами и их аксонами, расположенными в толще эпителиального слоя, где они играют роль, аналогичную таковой шванновских клеток периферических нервов.

Корнеальная строма — самый толстый (около 90% от общей толщины) слой роговицы — сформирована несколькими классами белковых молекул: коллагенами, гликозаминогликанами и кристаллинами, организованными таким образом, чтобы не препятствовать прохождению света и не вызывать его рассеивание. Главным клеточным элементом стромы роговицы являются кератоциты, а также дендритные клетки и макрофаги, участвующие в локальных иммунных и воспалительных реакциях.

Задний (внутренний) слой роговицы покрыт монослоем эндотелиальных клеток, отделенных от стромального слоя базальной (десцеметовой) мембраной, компоненты которой эти же клетки и синтезируют. И сами эндотелиальные клетки, и их базальная мембрана определяют ионный баланс стромы, а также регулируют транспорт жидкости из внутренней камеры глаза.

Поражения роговицы. Выбор тактики лечения

К числу наиболее частых причин повреждений роговицы могут быть отнесены механические, физические и химические поражения, бактериальные и/или вирусные инфекции (включая COVID-19), возрастные изменения и т. д., приводящие к нарушению ее как клеточных, так и структурных компонентов [5—9].

Существующие классификации поражений роговицы учитывают не только причины, но и глубину поражения: повреждение может ограничиваться лишь поверхностными структурами, такими как эпителий, либо распространяться на ее более глубокие слои (строма и эндотелий), а также на переднюю камеру глаза и хрусталик [10, 11]. Еще одним фактором, определяющим последующую тактику лечения, является протяженность поражения — вовлечение в патологический процесс зоны лимба, склеры и слизистой оболочки. И, наконец, возможности методов регенеративной медицины напрямую зависят от того, поражен только один или оба глаза.

В случае тяжелых поражений единственным способом восстановления зрения являются различные техники кератопластики, трансплантация донорской роговицы или (пока в экспериментальных условиях) ее биосинтетических аналогов [12, 13] — ежегодно в мире проводится более 180 тыс. подобных операций, и по их числу офтальмология превосходит даже гематологию, где трансплантация кроветворных стволовых клеток на протяжении нескольких последних десятилетий стала уже практически рутинной процедурой [14, 15].

В остальных, менее драматичных ситуациях внимание специалистов привлекают способы, направленные на стимуляцию регенерации и призванные естественным путем привести к восстановлению структур роговицы и ее функциональности [3, 9, 10, 16—21]. Разумеется, никто не отрицает необходимость применения фармацевтических средств, снижающих дальнейшее распространение поражения, воспаление и последующий фиброз, а также ингибирующих избыточный ангиогенез.

Стволовые клетки роговицы и их дефицит

Как и многие другие типы эпителиальных клеток, эпителий роговицы имеет относительно небольшую продолжительность жизни — 7—10 дней. Обновление эпителиального слоя осуществляется при участии лимбальных стволовых клеток (ЛСК), основной пул которых расположен в области крипт лимба — палисада Фогта, а также менее многочисленной популяции клеток-предшественников в базальном слое эпителия [19]. Основные свойства и характеристики ЛСК уже хорошо изучены и описаны в литературе, равно как и различные способы их применения в офтальмологии [19, 22, 23]. В покое ЛСК обладают минимальной пролиферативной активностью, тем не менее достаточной для постоянной физиологической регенерации эпителия. В ответ на повреждение и они сами, и (преимущественно) их низкодифференцированные потомки демонстрируют всплеск пролиферации, миграции и последующей дифференцировки, восполняя дефицит эпителиальных клеток в области поражения.

К сожалению, так происходит не всегда: при поражениях, затрагивающих зону лимба, стра-

дают и сами ЛСК. В результате возникает состояние, известное сегодня как «дефицит лимбальных стволовых клеток» (в более ранних публикациях можно также встретить термины «конъюнктивализация» или «неоваскулярный паннус»). Помимо травм роговицы есть и другие причины, приводящие к дефициту ЛСК: некоторые генетические аномалии, эндокринные нарушения, синдром Стивенса—Джонсона, длительное ношение контактных линз, возрастные изменения и т.д. [24].

Одним из подходов к лечению дефицита ЛСК является трансплантация небольших биопсийных фрагментов аутологичной лимбальной ткани (при условии, что второй глаз не поврежден) или самих ЛСК, выделенных и дополнительно размноженных *in vitro* [23, 25, 26]. В противном случае приходится прибегать к трансплантации аллогенного (донорского, чаще трупного) материала, что связано с риском отторжения и диктует необходимость последующей иммуносупрессивной терапии [13, 18, 25].

Ткани перинатального происхождения

К числу тканей, в разные годы и с разным успехом применявшихся в медицине, можно отнести различные части последа: плодные оболочки, пуповину и плаценту (включая выделенные из них клетки), а также пуповинную кровь и амниотическую жидкость. Сведения об их целебных свойствах можно найти как в литературе начала XX в. [27], так и в более поздних публикациях, однако сегодня подобные «биологические отходы», за редким исключением, подлежат утилизации [28].

Амниотическая мембрана

Амниотическая мембрана — один из компонентов амниона, состоящий из одного слоя эпителиальных клеток, базальной мембраны и аваскулярного соединительнотканного матрикса с вкраплением фибробластоподобных клеток. Первые успешные попытки применения амниотической мембраны в офтальмологии были сделаны еще в начале 40-х годов прошлого столетия при лечении дефектов конъюнктивы [29], однако в последующие несколько десятилетий этот подход не нашел широкого применения в связи как с проблемами получения свежего материала, так и с высоким риском его инфицирования. Интерес к амниотической мембране вновь возник уже в 1990-х и особенно 2000-х годах, когда были получены убедительные данные об эффективности ее трансплантации в лечении дефектов роговичного эпителия, дефицита ЛСК, химических и термических ожогов роговицы и т.п. [30—35].

Терапевтические эффекты амниотической мембраны связаны с присутствием в ее составе широкого спектра биологически активных молекул, включая гепатоцитарный и эпидермальный ростовые факторы (HGF и EGF соответственно), фактор роста фибробластов (FGF) и трансформирующий ростовой фактор β (TGF-β), а также компонентов внеклеточного матрикса (фибронектина и коллагенов I, III, IV и V типов), способствующих адгезии, миграции и дифференцировке эпителия *in vitro* и *in vivo* [36, 37]. Эти и другие компоненты амниотической мембраны, вместе и по отдельности, обладают противовоспалительным, антиапоптотическим и антифибротическим действием в отношении эпителиальных клеток, а также предотвращают воспалительную инфильтрацию роговицы клетками гематогенного происхождения [30, 38].

Все сказанное выше справедливо в отношении нативной амниотической мембраны. Однако, как уже отмечалось, трансплантация аллогенного биологического материала, как правило, разнесена во времени с его получением и характеристикой, а также несет риск инфицирования реципиента. В связи с этим отдельного внимания заслуживают способы увеличения сроков хранения трансплантата и снижения степени его биологической опасности. К их числу можно отнести криоконсервацию и изготовление лиофильно высушенных препаратов [39]. С одной стороны, это позволяет продлить сроки хранения до нескольких месяцев, с другой — дает возможность провести необходимые диагностические процедуры в полном объеме и/или стерилизацию гамма-облучением.

Говоря о возможностях применения амниотической мембраны в офтальмологии, нельзя не остановиться еще на одной возможности использования входящих в ее состав «полезных» компонентов, в данном случае в составе глазных капель/искусственной слезы. Гомогенат и последующий экстракт амниотической мембраны содержат те же биологически активные соединения, что и нативный амнион, и, по данным большинства исследователей, обладают сходным терапевтическим эффектом [31, 36, 40—43]. Еще одним преимуществом получаемых глазных капель можно считать возможность более строгого соблюдения условий производства и стерильность продукта, достигаемую фильтрацией через мембранные фильтры.

Сыворотка пуповинной крови

Широкое применение в лечении поражений роговицы различного генеза нашли заменители слезы на основе сыворотки аутологичной или донорской периферической крови [44, 45]. По биохимическим показателям сыворотка крови весьма близка к составу слезной жидкости [46, 47]. В ней присутствуют в достаточно высоких концентрациях многие из ростовых факторов и цитокинов, участвующих в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток роговичного эпителия: EGF, TGF-β, инсулиноподобный ростовой фактор-1 (IGF-1), фактор роста не-

рвов (NGF) [48], а также витамин А и фибронектин. Поскольку концентрация большинства из перечисленных факторов в сыворотке, как правило, в разы превышает их содержание в слезной жидкости, это позволяет использовать данный продукт в разведенном виде с содержанием сыворотки порядка 20%. Подобные глазные капли уже несколько десятилетий успешно применяются в клинической практике для лечения тяжелых форм синдрома сухого глаза, персистирующих эпителиальных дефектов, кератоконъюнктивитов и эрозий роговицы [44, 49—51].

Следует отметить, что при изготовлении глазных капель на основе сыворотки крови предпочтение обычно отдается аутологичному продукту. Это позволяет минимизировать риск инфицирования пациента гемотрансмиссивными патогенами, не входящими в перечень обязательного тестирования донора, либо вероятность аллоиммунизации белками групповой или резус-принадлежности. Однако забор крови и использование аутологичной сыворотки не всегда возможны из-за наличия у пациента сопутствующих заболеваний либо вследствие его возраста. Так, у детей получение достаточного объема крови бывает затруднительно, а у лиц преклонного возраста концентрация в крови ростовых факторов недостаточна для получения желаемого терапевтического эффекта. С одной стороны, это диктует необходимость использования аллогенной сыворотки от проверенных доноров крови, с другой — делает актуальным поиск ее альтернативных источников.

Практически идеальным материалом, пригодным для клинического применения, является сыворотка пуповинной крови. В условиях современных родовспомогательных учреждений пуповинная кровь может заготавливаться в неограниченных количествах, а последующее изготовление сыворотки в сертифицированных лабораториях способно удовлетворить нужды не только офтальмологии, но и других областей регенеративной медицины.

По содержанию факторов роста, цитокинов и других биологически активных соединений сыворотка пуповинной крови выгодно отличается от сыворотки периферической крови взрослых доноров [48, 52]. При культивировании клеток *in vitro* ее применение позволяет не только отказаться от использования ксеногенных компонентов (сыворотки крови крупного рогатого скота, традиционно используемой для этих целей), но и существенно повысить эффективность экспансии различных типов клеток, включая эпителий роговицы, лимбальные и мезенхимальные стволовые клетки [53—55, 75].

В клинической практике использование глазных капель на основе сыворотки пуповинной крови нашло применение в терапии большинства известных поражений роговицы: рецидивирующих эрозий и тяжелых поражений роговичного эпителия, химических ожогов и т. п. [17, 38, 56—58].

Еще одной областью применения глазных капель на основе сыворотки пуповинной крови является синдром «сухого глаза», часто встречающийся у лиц преклонного возраста или как результат болезни «трансплантат против хозяина» — одного из осложнений аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [45, 59].

Мезенхимальные стромальные клетки

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) — единственный тип клеток нелимбального аллогенного происхождения, нашедший применение в офтальмологической практике для лечения различных поражений роговицы, включая дефицит ЛСК [25, 60—62, 76]. Традиционными источниками МСК как для экспериментального, так и для клинического применения являются костный мозг и подкожная жировая ткань, хотя эти клетки можно получить и из более «экзотических» источников, например менструальной крови или пульпы выпавших молочных зубов.

Несмотря на то что МСК способны непосредственно дифференцироваться в клеточные элементы различных тканей *in vitro* и *in vivo*, их терапевтический эффект достигается преимущественно благодаря паракринной активности — синтезу и секреции целой плеяды биологически активных молекул (цитокинов, хемокинов, факторов роста и т.д.), обладающих иммуномодулирующим и противовоспалительным действием [62—64]. Даже апикального применения суспензии МСК бывает достаточно для снижения воспалительной реакции роговицы и стимуляции ее регенерации [62]. Сходным образом действуют клетки, заключенные в трехмерный матрикс или растущие на его поверхности (иногда для этих целей используют амниотическую мембрану), а также клетки, введенные под конъюнктиву глаза [60].

В плане получения и последующего клинического использования МСК ткани перинатального происхождения заслуживают особого внимания. В отличие от костного мозга или жировой ткани их получение не требует специальных хирургических манипуляций, поскольку проводится уже после свершившихся родов. По содержанию МСК и их функциональной (в том числе синтетической и секреторной) активности ткани последа выгодно отличаются от своих «взрослых» аналогов [63, 64]. Даже при наличии у матери инфекционных заболеваний патоген редко проникает в кровоток плода благодаря плацентарному барьеру, что повышает биологическую безопасность используемого клеточного продукта. Наконец, МСК практически не поддерживают репродукцию патогенных вирусов, включая SARS-CoV-2 [65].

Среди прочих перинатальных источников (плаценты, амниотической жидкости) наибольшими

Таблица 2. **Клинические исследования с использованием МСК, МСК-ТПК и компонентов их секретома (по данным www.clinicaltrials.gov по состоянию на июнь 2022 г.)**

Table 2. **Clinical studies involving mesenchimal stem cells, umbilical cord mesenchymal stem cells and components of their secretome (according to *www.clinicaltrials.gov* as of June 2022)**

Ключевые слова	Число исследований
Mesenchymal stem (cells)	1429
Umbilical cord mesenchymal stem (cells)	365
Mesenchymal stem (cells) exosomes	22
Mesenchymal stem (cells) conditioned medium	18
Umbilical cord mesenchymal stem (cells) conditioned medium	8
Mesenchymal stem AND eye diseases	24
Umbilical cord mesenchymal AND eye diseases	5

перспективами для клинического использования обладают МСК, получаемые из ткани пупочного канатика (МСК-ТПК). Эти клетки могут быть легко выделены, размножены до необходимого количества, охарактеризованы и сохранены в криогенных условиях, что делает данный клеточный продукт практически «продуктом с полки», востребованным в различных областях регенеративной медицины [66].

Однако, несмотря на то что в отношении культивируемых эпителиальных клеток роговицы и ЛСК, а также при экспериментальных поражениях роговицы МСК-ТПК продемонстрировали положительный эффект в виде стимуляции пролиферации и миграции клеток [67—69], найти в литературе отчеты об их терапевтической эффективности не удалось. Что же касается проводимых в настоящее время клинических исследований с использованием МСК, то по ключевым словам mesenchymal AND cornea/corneal в базе www.clinicaltrials.gov таковых нашлось всего 10, из которых активными или законченными оказались лишь половина, и то применительно к МСК костного мозга или жировой ткани. Единственным исследованием на эту тему, удовлетворяющим условиям поиска, оказалось NCT03237442 (Placebo-Controlled, Randomized, Double-blind Trial of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Injection for Ocular Corneal Burn [Плацебо-контролируемое рандомизированное двойное слепое исследование инъекции мезенхимальных стволовых клеток пупочного канатика при ожогах роговицы глаза]), стартовавшее в Китае в 2018 г. с неизвестным результатом.

Расширенный поиск (mesenchymal AND eye/ocular/optic) все же позволил найти несколько ссылок на исследования с применением МСК-ТПК (NCT05147701, NCT04877067, NCT04224207, NCT04315025 и NCT04763369), но все они оказались посвящены лечению пигментного ретинита (*retinitis pigmentosa*). Для сравнения, в других областях медицины, по данным того же портала, МСК-ТПК являются «участниками» более 350 клинических исследований **(табл. 2)**.

Бесклеточные терапевтические средства на основе МСК

Как уже отмечалось, большинство эффектов МСК являются паракринными, т.е. определяются набором ростовых факторов и цитокинов, выделяемых ими в окружающее пространство. В случае культивируемых клеток этим пространством оказывается среда культивирования, которую МСК «кондиционируют» на протяжении нескольких суток. В результате формируется бесклеточный «коктейль», содержащий достаточно высокие концентрации практически всех компонентов, необходимых для стимуляции процессов регенерации [63, 64]. Помимо растворимых молекул, МСК, равно как и другие типы клеток, способны формировать экзосомы и микровезикулы, являющиеся уже мембранными образованиями [70]. Считается, что экзосомы могут выступать в качестве контейнеров для доставки к клеткам-мишеням различных биологически активных молекул: белков, липидов, мРНК и микроРНК, причем двухслойная структура мембраны экзосом позволяет им «путешествовать» на значительные расстояния, не подвергаясь дегенерации.

В последние годы терапевтический потенциал секретома МСК исследуется не менее активно, чем применение самих клеток [71, 72]. Об этом свидетельствует не только возрастающее количество публикаций, но и появление пока немногочисленных клинических исследований по применению как секретома МСК в целом, так и выделенных из него микровезикул в различных областях медицины **(см. табл. 2)**.

Однако исследованию продуктов секреции МСК в офтальмологии вообще и применительно к поражениям роговицы в частности уделяется крайне мало внимания, несмотря на обнадеживающие результаты доклинических исследований [10, 61, 73]. Между тем, в силу относительной простоты получения, хорошей сохранности входящих в него компонентов при хранении, возможности строгого контроля качества при производстве, а также отсутствия потенциальных рисков, связанных с использованием целых

клеток [74], секретом МСК, и в особенности МСК-ТПК, мог бы стать еще одним «продуктом с полки», применимым для лечения поражений роговицы различного генеза.

Заключение

На протяжении нескольких десятилетий ткани перинатального происхождения успешно применяются для лечения поражений роговицы различной этиологии. С развитием клеточных технологий и методов регенеративной медицины арсенал доступных терапевтических подходов к регенерации роговицы уже в ближайшие годы может расшириться благодаря разработке и внедрению в офтальмологическую практику новых клеточных и бесклеточных продуктов, разумеется, после проведения необходимых доклинических и клинических исследований.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
The author declares no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli MV, Das A, Jonas JB, Keeffe J, Kempen JH, Leasher J, Limburg H, Naidoo K, Pesudovs K, Silvester A, Stevens GA, Tahhan N, Wong TY, Taylor HR; Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990—2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2017;5(12):1221-1234. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30393-5
2. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(3):588-598. https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2010.12.037
3. Oie Y, Nishida K. Corneal regenerative medicine. *Regen Ther*. 2016;5:40-45. https://doi.org/10.1016/j.reth.2016.06.002
4. Barrientez B, Nicholas SE, Whelchel A, Sharif R, Hjortdal J, Karamichos D. Corneal injury: Clinical and molecular aspects. *Exp Eye Res*. 2019;186:107709. https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107709
5. Armstrong L, Collin J, Mostafa I, Queen R, Figueiredo FC, Lako M. In the eye of the storm: SARS-CoV-2 infection and replication at the ocular surface? *Stem Cells Transl Med*. 2021;10(7):976-986. https://doi.org/10.1002/sctm.20-0543
6. Gupta PC, Kumar MP, Ram J. COVID-19 pandemic from an ophthalmology point of view. *Indian J Med Res*. 2020;151(5):411-418. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1369_20
7. Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res*. 2020;197:108089. https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108089
8. Марченко Н.Р., Каспарова Е.А., Будникова Е.А., Макарова М.А. Поражение переднего сегмента глаза при коронавирусной инфекции (COVID-19). *Вестник офтальмологии*. 2021;137(6):142-148. Marchenko NR, Kasparova EA, Budnikova EA, Makarova MA. Anterior eye segment damage in coronavirus infection (COVID-19). *The Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2021;137(6):142-148. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/oftalma2021137061142
9. Труфанов С.В., Саловарова Е.П., Текеева Л.Ю. Дегенерации роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2018;134(5-2):282-288. Trufanov SV, Salovarova EP, Tekeeva LY. Corneal degenerations. *The Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2018;134(5-2):282-288. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/oftalma2018134051282
10. Saccu G, Menchise V, Giordano C, Delli Castelli D, Dastrù W, Pellicano R, Tolosano E, Van Pham P, Altruda F, Fagoonee S. Regenerative approaches and future trends for the treatment of corneal burn injuries. *J Clin Med*. 2021;10(2):317. https://doi.org/10.3390/jcm10020317
11. Куликов А.Н., Черныш В.Ф., Чурашов С.В. О новой классификации ожогов глаз. *Вестник офтальмологии*. 2020;136(2):134-142. Kulikov AN, Chernysh VF, Churashov SV. On the new classification of eye burns. *The Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2020;136(2):134-142. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/oftalma2020136021134
12. Liu S, Wong YL, Walkden A. Current perspectives on corneal transplantation. *Clin Ophthalmol*. 2022;16:631-646. https://doi.org/10.2147/OPTH.S289359
13. Singh R, Gupta N, Vanathi M, Tandon R. Corneal transplantation in the modern era. *Indian J Med Res*. 2019;150(1):7-22. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_141_19
14. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019;80(1):33-39. https://doi.org/10.12968/hmed.2019.80.1.33
15. Zhu X, Tang B, Sun Z. Umbilical cord blood transplantation: Still growing and improving. *Stem Cells Transl Med*. 2021;10(suppl 2):62-74. https://doi.org/10.1002/sctm.20-0495
16. Mobaraki M, Abbasi R, Omidian Vandchali S, Ghaffari M, Moztarzadeh F, Mozafari M. Corneal repair and regeneration: current concepts and future directions. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:135. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00135
17. Sharma N, Kaur M, Agarwal T, Sangwan VS, Vajpayee RB. Treatment of acute ocular chemical burns. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(2):214-235. https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2017.09.005
18. Oie Y, Komoto S, Kawasaki R. Systematic review of clinical research on regenerative medicine for the cornea. *Jpn J Ophthalmol*. 2021;65(2):169-183. https://doi.org/10.1007/s10384-021-00821-z
19. Ruan Y, Jiang S, Musayeva A, Pfeiffer N, Gericke A. Corneal epithelial stem cells-physiology, pathophysiology and therapeutic options. *Cells*. 2021;10(9):2302. https://doi.org/10.3390/cells10092302
20. Труфанов С.В., Суббот А.М., Шахбазян Н.П. Биотехнологические методы лечения персистирующих эпителиальных дефектов роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2020;136(5-2):277-282. Trufanov SV, Subbot AM, Shakhbazyan NP. Modern biotechnological treatment methods of persistent corneal epithelial defects. *The Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2020;136(5-2):277-282. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/oftalma2020136052277
21. Nosrati H, Alizadeh Z, Nosrati A, Ashrafi-Dehkordi K, Banitalebi-Dehkordi M, Sanami S, Khodaei M. Stem cell-based therapeutic strategies for corneal epithelium regeneration. *Tissue Cell*. 2021;68:101470. https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101470
22. Nurković JS, Vojinović R, Dolićanin Z. Corneal stem cells as a source of regenerative cell-based therapy. *Stem Cells Int*. 2020;2020:8813447. https://doi.org/10.1155/2020/8813447
23. Samoila O, Samoila L. Stem cells in the path of light, from corneal to retinal reconstruction. *Biomedicines*. 2021;9(8):873. https://doi.org/10.3390/biomedicines9080873
24. Sasamoto Y, Ksander BR, Frank MH, Frank NY. Repairing the corneal epithelium using limbal stem cells or alternative cell-based therapies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(5):505-513. https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1443442
25. Calonge M, Nieto-Miguel T, de la Mata A, Galindo S, Herreras JM, López-Paniagua M. Goals and challenges of stem cell-based therapy for corneal blindness due to limbal deficiency. *Pharmaceutics*. 2021;13(9):1483. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091483
26. Fernandez-Buenaga R, Aiello F, Zaher SS, Grixti A, Ahmad S. Twenty years of limbal epithelial therapy: an update on managing limbal stem cell deficiency. *BMJ Open Ophthalmol*. 2018;3(1):e000164. https://doi.org/10.1136/bmjophth-2018-000164
27. Davis JS. II. Skin grafting at the Johns Hopkins Hospital. *Ann Surg*. 1909;50(3):542-549. https://doi.org/10.1097/00000658-190909000-00002
28. Романов Ю.А., Романов А.Ю. Ткани перинатального происхождения — уникальный источник клеток для регенеративной медицины. Часть I. Пуповинная кровь. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2018;6(2):64-77.

Romanov YuA, Romanov AYu. Tissues of perinatal origin is a unique source of cells for regenerative medicine. Part I. Cord blood. *Neonatology: News, Opinions, Training = Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie*. 2018;6(2):64-77. (In Russ.).
https://doi.org/10.24411/2308-2402-2018-00019

29. de Rötth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol*. 1940;23(3):522-525.
https://doi.org/10.1001/archopht.1940.00860130586006
30. Walkden A. Amniotic membrane transplantation in ophthalmology: an updated perspective. *Clin Ophthalmol*. 2020;14:2057-2072.
https://doi.org/10.2147/OPTH.S208008
31. Murri MS, Moshirfar M, Birdsong OC, Ronquillo YC, Ding Y, Hoopes PC. Amniotic membrane extract and eye drops: a review of literature and clinical application. *Clin Ophthalmol*. 2018;12:1105-1112.
https://doi.org/10.2147/OPTH.S165553
32. Anderson DF, Ellies P, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(5):567-575.
https://doi.org/10.1136/bjo.85.5.567
33. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, John T, Espana EM, Steuhl KP, Tseng SC. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetoceles, and deep ulcers. *Ophthalmology*. 2002;109(4):694-703.
https://doi.org/10.1016/s0161-6420(01)01032-6
34. Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology*. 1999;106(8):1504-1510; discussion 1511.
https://doi.org/10.1016/S0161-6420(99)90444-X
35. Eslani M, Baradaran-Rafii A, Cheung AY, Kurji KH, Hasani H, Djalilian AR, Holland EJ. Amniotic membrane transplantation in acute severe ocular chemical injury: A randomized clinical trial. *Am J Ophthalmol*. 2019;199:209-215.
https://doi.org/10.1016/j.ajo.2018.11.001
36. Dudok DV, Nagdee I, Cheung K, Liu H, Vedovelli L, Ghinelli E, Kenyon K, Parapuram S, Hutnik CM. Effects of amniotic membrane extract on primary human corneal epithelial and limbal cells. *Clin Exp Ophthalmol*. 2015; 43(5):443-448.
https://doi.org/10.1111/ceo.12480
37. Shayan Asl N, Nejat F, Mohammadi P, Nekoukar A, Hesam S, Ebrahimi M, Jadidi K. Amniotic membrane extract eye drop promotes limbal stem cell proliferation and corneal epithelium healing. *Cell J*. 2019;20(4):459-468.
https://doi.org/10.22074/cellj.2019.5423
38. Sharma N, Singh D, Maharana PK, Kriplani A, Velpandian T, Pandey RM, Vajpayee RB. Comparison of amniotic membrane transplantation and umbilical cord serum in acute ocular chemical burns: a randomized controlled trial. *Am J Ophthalmol*. 2016;168:157-163.
https://doi.org/10.1016/j.ajo.2016.05.010
39. Rodríguez-Ares MT, López-Valladares MJ, Touriño R, Vieites B, Gude F, Silva MT, Couceiro J. Effects of lyophilization on human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol*. 2009;87(4):396-403.
https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2008.01261.x
40. Mahbod M, Shahhoseini S, Khabazkhoob M, Beheshtnejad AH, Bakhshandeh H, Atyabi F, Hashemi H. Amniotic membrane extract preparation: what is the best method? *J Ophthalmic Vis Res*. 2014;9(3):314-319.
https://doi.org/10.4103/2008-322X.143367
41. Liang L, Li W, Ling S, Sheha H, Qiu W, Li C, Liu Z. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. *Clin Exp Ophthalmol*. 2009;37(9):855-863.
https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2009.02159.x
42. Pérez ML, Barreales S, Sabater-Cruz N, Martinez-Conesa EM, Vilarrodona A, Casaroli-Marano RP. Amniotic membrane extract eye drops: a new approach to severe ocular surface pathologies. *Cell Tissue Bank*. 2021 Sep 21.
https://doi.org/10.1007/s10561-021-09962-4
43. Sabater-Cruz N, Figueras-Roca M, Ferrán-Fuertes M, Agustí E, Martínez-Conesa EM, Pérez-Rodríguez ML, Vilarrodona A, Casaroli-Marano RP; AMEED Study Group. Amniotic membrane extract eye drops for ocular surface diseases: use and clinical outcome in real-world practice. *Int Ophthalmol*. 2021;41(9):2973-2979.
https://doi.org/10.1007/s10792-021-01856-4
44. Soni NG, Jeng BH. Blood-derived topical therapy for ocular surface diseases. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(1):22-27.
https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-306842
45. Jongkhajornpong P, Anothaisintawee T, Lekhanont K, Numthavaj P, McKay G, Attia J, Thakkinstian A. Short-term efficacy and safety of biological tear substitutes and topical secretagogues for dry eye disease: a systematic review and network meta-analysis. *Cornea*. 2021 Dec 21.
https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002943
46. Geerling G, Maclennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(11):1467-1474.
https://doi.org/10.1136/bjo.2004.044347
47. Pan Q, Angelina A, Marrone M, Stark WJ, Akpek EK. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2(2):CD009327.
https://doi.org/10.1002/14651858.CD009327.pub3
48. Buzzi M, Versura P, Grigolo B, Cavallo C, Terzi A, Pellegrini M, Giannaccare G, Randi V, Campos EC. Comparison of growth factor and interleukin content of adult peripheral blood and cord blood serum eye drops for cornea and ocular surface diseases. *Transfus Apher Sci*. 2018;57(4):549-555.
https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.06.001
49. Young AL, Cheng AC, Ng HK, Cheng LL, Leung GY, Lam DS. The use of autologous serum tears in persistent corneal epithelial defects. *Eye (Lond)*. 2004;18(6):609-614.
https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700721
50. Schulze SD, Sekundo W, Kroll P. Autologous serum for the treatment of corneal epithelial abrasions in diabetic patients undergoing vitrectomy. *Am J Ophthalmol*. 2006;142(2):207-211.
https://doi.org/10.1016/j.ajo.2006.04.017
51. Azari AA, Rapuano CJ. Autologous serum eye drops for the treatment of ocular surface disease. *Eye Contact Lens*. 2015;41(3):133-140.
https://doi.org/10.1097/ICL.0000000000000104
52. Романов Ю.А., Вторушина В.В., Дугина Т.Н., Романов А.Ю., Петрова Н.В. Сыворотка/плазма пуповинной крови: цитокиновый профиль и перспективы применения в регенеративной медицине. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2019;(3):208-212.
Romanov YuA, Vtorushina VV, Dugina TN, Romanov AYu, Petrova NV. Human umbilical cord blood serum/plasma: cytokine profile and prospective application in regenerative medicine. *Bull Exp Biol Med*. 2019;168(1):173-177. (In Russ.).
https://doi.org/10.1007/s10517-019-04670-2
53. Chakraborty A, Dutta J, Das S, Datta H. Effect of cord blood serum on ex vivo human limbal epithelial cell culture. *J Ocul Biol Dis Infor*. 2013;5(3-4):77-82.
https://doi.org/10.1007/s12177-013-9106-5
54. Романов Ю.А., Балашова Е.Е., Волгина Н.Е., Кабаева Н.В., Дугина Т.Н., Сухих Г.Т. Сыворотка пуповинной крови человека: эффективная замена эмбриональной телячьей сыворотки для культивирования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2016;(4):215-220.
Romanov YuA, Balashova EE, Volgina NE, Kabaeva NV, Dugina TN, Sukhikh GT. Human umbilical cord blood serum: effective substitute of fetal bovine serum for culturing of human multipotent mesenchymal stromal cells. *Bull Exp Biol Med*. 2017;162(4):528-533. (In Russ.).
https://doi.org/10.1007/s10517-017-3654-9
55. Maharajan N, Cho GW, Choi JH, Jang CH. Regenerative therapy using umbilical cord serum. *In Vivo*. 2021;35(2):699-705.
https://doi.org/10.21873/invivo.12310
56. Giannaccare G, Carnevali A, Senni C, Logozzo L, Scorcia V. Umbilical cord blood and serum for the treatment of ocular diseases: a comprehensive review. *Ophthalmol Ther*. 2020;9(2):235-248.
https://doi.org/10.1007/s40123-020-00239-9
57. Sharma N, Lathi SS, Sehra SV, Agarwal T, Sinha R, Titiyal JS, Velpandian T, Tandon R, Vajpayee RB. Comparison of umbilical cord serum and amniotic membrane transplantation in acute ocular chemical burns. *Br J Ophthalmol*. 2015;99(5):669-673.
https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-305760
58. Vajpayee RB, Mukerji N, Tandon R, Sharma N, Pandey RM, Biswas NR, Malhotra N, Melki SA. Evaluation of umbilical cord serum therapy for persistent corneal epithelial defects. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(11):1312-1316.
https://doi.org/10.1136/bjo.87.11.1312
59. Versura P, Profazio V, Buzzi M, Stancari A, Arpinati M, Malavolta N, Campos EC. Efficacy of standardized and quality-controlled cord blood serum eye drop therapy in the healing of severe corneal epithelial damage in dry eye. *Cornea*. 2013;32(4):412-418.
https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3182580762
60. Galindo S, de la Mata A, López-Paniagua M, Herreras JM, Pérez I, Calonge M, Nieto-Miguel T. Subconjunctival injection of mesenchymal stem cells for corneal failure due to limbal stem cell deficiency: state of the art. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):60.
https://doi.org/10.1186/s13287-020-02129-0
61. Mansoor H, Ong HS, Riau AK, Stanzel TP, Mehta JS, Yam GH. Current Trends and Future Perspective of mesenchymal stem cells and exosomes in corneal diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):2853.
https://doi.org/10.3390/ijms20122853

62. Beeken LJ, Ting DSJ, Sidney LE. Potential of mesenchymal stem cells as topical immunomodulatory cell therapies for ocular surface inflammatory disorders. *Stem Cells Transl Med*. 2021;10(1):39-49. https://doi.org/10.1002/sctm.20-0118

63. Романов Ю.А., Волгина Н.Е., Вторушина В.В., Романов А.Ю., Дугина Т.Н., Кабаева Н.В., Сухих Г.Т. Сравнительный анализ секретома мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пупочного канатика и костного мозга человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2018;(4):220-225.
Romanov YuA, Volgina NE, Vtorushina VV, Romanov AYu, Dugina TN, Kabaeva NV, Sukhikh GT. Comparative analysis of secretome of human umbilical cord- and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells. *Bull Exp Biol Med*. 2019;166(4):535-540. (In Russ.). https://doi.org/10.1007/s10517-019-04388-1

64. Романов Ю.А., Вторушина В.В., Дугина Т.Н., Романов А.Ю., Петрова Н.В., Сухих Г.Т. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки пупочного канатика человека проявляют наивысшую секреторную активность при культивировании в присутствии сыворотки пуповинной крови. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2020;(2):84-88.
Romanov YuA, Vtorushina VV, Dugina TN, Romanov AYu, Petrova NV, Sukhikh GT. Human umbilical cord tissue-derived multipotent mesenchymal stromal cells exhibit maximum secretory activity in the presence of umbilical cord blood serum. *Bull Exp Biol Med*. 2020;169(4):544-548. (In Russ.). https://doi.org/10.1007/s10517-020-04926-2

65. Avanzini MA, Mura M, Percivalle E, Bastaroli F, Croce S, Valsecchi C, Lenta E, Nykjaer G, Cassaniti I, Bagnarino J, Baldanti F, Zecca M, Comoli P, Gnecchi M. Human mesenchymal stromal cells do not express ACE2 and TMPRSS2 and are not permissive to SARS-CoV-2 infection. *Stem Cells Transl Med*. 2021;10(4):636-642. https://doi.org/10.1002/sctm.20-0385

66. Романов Ю.А., Романов А.Ю. Ткани перинатального происхождения — уникальный источник клеток для регенеративной медицины. Часть 2. Пупочный канатик. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2018;6(3):54-73.
Romanov YuA, Romanov AYu. Tissues of perinatal origin: a unique source of cells for regenerative medicine. Part II. Umbilical cord. *Neonatology: News, Opinions, Training = Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie*. 2018;6(3):54-73. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/2308-2402-2018-13002

67. Kacham S, Bhure TS, Eswaramoorthy SD, Naik G, Rath SN, Parcha SR, Basu S, Sangwan VS, Shukla S. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells promote corneal epithelial repair in vitro. *Cells*. 2021;10(5):1254. https://doi.org/10.3390/cells10051254

68. Ziaei M, Zhang J, Patel DV, McGhee CNJ. Umbilical cord stem cells in the treatment of corneal disease. *Surv Ophthalmol*. 2017;62(6):803-815. https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2017.02.002

69. Zhou Y, Chen Y, Wang S, Qin F, Wang L. MSCs helped reduce scarring in the cornea after fungal infection when combined with anti-fungal treatment. *BMC Ophthalmol*. 2019;19(1):226. https://doi.org/10.1186/s12886-019-1235-6

70. Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):63. https://doi.org/10.1186/s13287-018-0791-7

71. Konala VB, Mamidi MK, Bhonde R, Das AK, Pochampally R, Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytotherapy*. 2016;18(1):13-24. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.10.008

72. Beer L, Mildner M, Ankersmit HJ. Cell secretome based drug substances in regenerative medicine: when regulatory affairs meet basic science. *Ann Transl Med*. 2017;5(7):170. https://doi.org/10.21037/atm.2017.03.50

73. Park GW, Heo J, Kang JY, Yang JW, Kim JS, Kwon KD, Yu BC, Lee SJ. Topical cell-free conditioned media harvested from adipose tissue-derived stem cells promote recovery from corneal epithelial defects caused by chemical burns. *Sci Rep*. 2020;10(1):12448. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69020-z

74. Ghaderi A, Abtahi S. Mesenchymal stem cells: miraculous healers or dormant killers? *Stem Cell Rev Rep*. 2018;14(5):722-733. https://doi.org/10.1007/s12015-018-9824-y

75. Ang LP, Do TP, Thein ZM, Reza HM, Tan XW, Yap C, Tan DT, Beuerman RW. Ex vivo expansion of conjunctival and limbal epithelial cells using cord blood serum-supplemented culture medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(9):6138-6147. https://doi.org/10.1167/iovs.10-6527

76. Ghiasi M, Jadidi K, Hashemi M, Zare H, Salimi A, Aghamollaei H. Application of mesenchymal stem cells in corneal regeneration. *Tissue Cell*. 2021;73:101600. https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101600

Поступила 22.06.2022
Received 22.06.2022
Принята к печати 22.09.2022
Accepted 22.09.2022