

Влияние препарата пептидов на постожоговые воспалительные процессы повреждённых тканей роговицы в эксперименте

Терещенко А.В.¹, Трифаненкова И.Г.¹, Кодунов А.М.¹, Темнов А.А.², Склифас А.Н.³

¹ Калужский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России (248007, г. Калуга, ул. С. Федорова, 5, Россия); ² ФГАУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9, Россия); ³ ФГБУН Институт биофизики клетки Российской академии наук (142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Трифаненкова Ирина Георгиевна, e-mail: nauka2@mntk.kaluga.ru

Резюме

Обоснование. При ожоговой травме роговицы трансплантацию клеток в повреждённую область необходимо провести в течение первых 12 часов, что делает невозможным использование аутологичных стволовых клеток. Одним из решений данной проблемы может быть использование в лечении и профилактике осложнений при ожоговой болезни глаза пептидов, полученных из культивированных стволовых клеток. **Цель исследования:** изучить динамику восстановления тканей роговицы под влиянием раствора пептидов на модели термического ожога роговицы.

Методы. Исследование проведено на 20 кроликах (20 глаз) породы серая шиншилла весом от 2,5 до 3,2 кг с моделью термического ожога роговицы. В зависимости от применяемого метода лечения животные были разделены на две группы по 10 кроликов (10 глаз). В опытной группе для лечения термического ожога роговицы применяли инстилляцию раствора пептидов; в контрольной лечение проводилось раствором моксифлоксацина и гелем, состоящим из депротенинизированного диализата телячьей крови. На 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки в каждой группе двух животных выводили из эксперимента для проведения морфологического исследования роговицы.

Результаты. В опытной группе к 30-м суткам, по данным гистологического исследования, достигнуто полное завершение воспалительного процесса как на поверхности, так и внутри роговицы с тенденцией к восстановлению её нормальной структуры. В контрольной группе животных наблюдали значительно большие сроки восстановления роговицы и сохранения циклитической реакции, несмотря на получаемую терапию.

Заключение. Применение препарата пептидов является перспективным в лечении термического ожога роговицы. Необходимо проведение дальнейших исследований по данному направлению.

Ключевые слова: термический ожог роговицы, неоваскуляризация роговицы, мезенхимальные стволовые клетки, пептиды, экспериментальные исследования

Для цитирования: Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Кодунов А.М., Темнов А.А., Склифас А.Н. Влияние препарата пептидов на постожоговые воспалительные процессы повреждённых тканей роговицы в эксперименте. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(4): 30-35. doi: 10.29413/ABS.2019-4.4.4

Effect of Ligand Peptides on Post-Burn Inflammation of Damaged Corneal Tissue in Experiment

Tereshchenko A.V.¹, Trifanenkova I.G.¹, Kodunov A.M.¹, Temnov A.A.², Sklifas A.N.³

¹ Kaluga Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (5 S. Fyodorov str., 248007 Kaluga, Russian Federation);

² Moscow Institute of Physics and Technology (9 Institutskiy lane, 141701 Dolgoprudny, Moscow Region, Russian Federation);

³ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences (3 Institutskaya str., 142290 Pushchino, Moscow Region, Russian Federation)

Corresponding author: Irina G. Trifanenkova, e-mail: nauka2@mntk.kaluga.ru

Abstract

Background. In case of a corneal burn injury, cell transplantation into the damaged area must be performed within the first 12 hours, which makes it impossible to use autologous stem cells. One solution to this problem may be the use of peptides, derived from cultured stem cells in the treatment and prevention of complications in a burn eye disease.

Aims: To study the dynamics of corneal tissue repair under the influence of a peptide solution on a corneal thermal burn model.

Materials and methods. The study included 20 rabbits (20 eyes) of the gray Chinchilla breed weighing from 2.5 to 3.2 kg with a corneal thermal burn model. Depending on the method of treatment used, the animals were divided in two groups of 10 rabbits (10 eyes). In the experimental group, instillations of a peptide solution were used to treat corneal thermal burns; in the control treatment was carried out with a solution of moxifloxacin and gel "Solcoseryl". On the 1st, 3rd, 7th, 14th, 30th days in each group, two animals were sacrificed to conduct a morphological study of the cornea.

Results. In the experimental group, by the 30th day, according to a histological study, the inflammatory process was completed both on the surface and inside the cornea, with a tendency to restore its normal structure. In the control group of animals, significantly longer periods of corneal recovery and preservation of inflammation, despite the received therapy, were observed.

Conclusions. The use of the peptide preparation is promising in the treatment of corneal thermal burn. Further research is needed in this area.

Key words: corneal thermal burn, corneal neovascularization, mesenchymal stem cells, peptides, experimental studies

For citation: Tereshchenko A.V., Trifanenkova I.G., Kodunov A.M., Temnov A.A., Sklifas A.N. Effect of ligand peptides on post-burn inflammation of damaged corneal tissue in experiment. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(4): 30-35. doi: 10.29413/ABS.2019-4.4.4

Роговая оболочка представляет собой передний, более выпуклый отдел фиброзной оболочки глазного яблока и состоит из эпителия, боуменовой мембраны, стромы, десцеметовой мембраны и эндотелия. Место перехода роговицы в склеру (лимб) имеет вид полупрозрачного кольца шириной до 1 мм. В базальной части лимбальной области находятся лимбальные стволовые клетки (ЛСК). При любых повреждениях роговицы ЛСК могут генерировать эпителиальные клетки для заполнения эрозированных областей [1]. При обширных повреждениях роговицы, таких как ожоги глаз, к выработке эпителиальных клеток присоединяется и ангиогенез, что приводит к миграции нейтрофилов и макрофагов, а также Th1-клеток.

По мере того как в патологический процесс включается лимбальная область, ЛСК теряют свою функцию и уже не способны заменить повреждённые эпителиальные клетки, что в свою очередь приводит к формированию васкуляризованного бельма роговицы [2, 3]. В таких случаях трансплантация роговицы является наиболее возможным вариантом для восстановления зрительных функций. Однако до сих пор остро стоит проблема отторжения трансплантата вследствие послеоперационного воспаления, ангиогенеза, лимфангиогенеза и иммунного ответа [4, 5].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) вырабатываются множеством тканей взрослого организма, такими как костный мозг, печень и жировая ткань. Как мультипотентные клетки МСК могут дифференцироваться в различные типы клеток [6]. Кроме потенциала их дифференцировки, МСК оказывают иммуномодулирующее и противовоспалительное действие на окружающие клетки путём высвобождения секретируемых цитокинов [7]. При совместном культивировании с ЛСК МСК могут стимулировать пролиферацию ЛСК и экспрессию фактора роста *in vitro* [8]. Поэтому терапия МСК может стать многообещающим видом лечения заболеваний роговицы, осложнённых её неоваскуляризацией, посредством контроля лимфангиогенеза, воспаления и иммунного ответа.

Однако существуют факторы, препятствующие клиническому применению данного метода. Так, в случае ожоговой травмы трансплантацию клеток в повреждённую область необходимо провести в течение первых 12 часов, что делает невозможным использование аутологичных (собственных) стволовых клеток, так как нет времени для их выделения и культивирования, а применение аллогенных клеток возможно только после их предварительного криоконсервирования и последующей разморозки перед трансплантацией, что негативным образом влияет на жизнеспособность и функциональную активность трансплантированных клеток [8, 9, 10, 11].

Одним из решений данной проблемы может быть использование в лечении и профилактике осложнений при ожоговой болезни глаза пептидов, полученных из культивированных стволовых клеток [9].

Проведённое нами экспериментальное исследование демонстрирует возможности естественной репарации тканей роговицы после ожоговых повреждений на фоне применения новых неинвазивных технологий, а именно инстилляций комплекса пептидов, полученных из культивированных мезенхимальных стволовых клеток, высокая

эффективность и безопасность которых подтверждается морфологическими исследованиями роговицы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить динамику восстановления тканей роговицы под влиянием раствора пептидов на модели термического ожога роговицы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 20 кроликах (20 глаз) породы серая шиншилла весом от 2,5 до 3,2 кг с моделью термического ожога роговицы. Животные содержались в условиях вивария в отдельных клетках и имели свободный доступ к пище и воде. При планировании и проведении экспериментов руководствовались принципом гуманного отношения к животным.

Для создания модели термического ожога роговицы использовали специальное устройство с металлическим цилиндром (диаметр основания 4,0 мм), которое подключали к источнику переменного тока; максимальный пик температуры составлял 210 °С. Перед термическим воздействием в конъюнктивальную полость закапывали 0,5%-й раствор проксиметакаина. Непосредственно после термического воздействия всем животным за нижнее веко закладывали мазь 0,3%-й офлоксацин. Ожог наносился путём установки основания цилиндра на центральную область роговицы подопытных животных на 3 с.

На 1-е сутки после нанесения ожогов всем животным проводилась скарификация струпа роговицы после инстилляцией 0,5%-го раствора проксиметакаина под щелевой лампой HS (Haag-Streit International).

В зависимости от применяемого метода лечения животные были разделены на две группы по 10 кроликов (10 глаз). В опытной группе для лечения термического ожога роговицы применяли инстилляцию раствора пептидов; в контрольной лечение проводилось раствором моксифлоксацина и гелем, состоящим из депротеинизированного диализата телячьей крови.

До моделирования термического ожога роговицы для получения препарата пептидов у животных из тазовой кости выделяли стволовые клетки костного мозга под общей анестезией.

Мононуклеарную фракцию клеток костного мозга (МСК) выделяли на градиенте плотности с использованием стандартного раствора Lympholyte-H (Cedarlane, Canada). Суспензию мононуклеарных клеток высевали на чашки Петри и культивировали в среде DMEM с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки.

Для подтверждения того, что используемые клетки обладают свойствами МСК, были проведены их остеогенная, хондрогенная и адипогенная дифференцировки по стандартным методикам [9]. Остеогенная дифференцировка (с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки, 100 мкМ дексаметазона, 0,1 мМ аскорбиновой кислоты и 10 нМ β-глицерофосфата) была подтверждена наличием щелочной фосфатазы в культуре клеток с использованием стандартных реактивов (Sigma-Aldrich, USA). Хондрогенная дифференцировка (с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки, 100 мкМ

дексаметазона и 0,1 мкг/мл TGF-β) была подтверждена с использованием окраски альциановым голубым. Адипогенная дифференцировка (с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки, 10 мкМ дексаметазона, 10 мкг/мл инсулина и 100 мкг/мл IBMX) была подтверждена окрашиванием с использованием Oil Red-O.

После получения клеточного монослоя проводили полную смену культуральной среды и через 3 суток кондиционированную культуральную среду объединяли с лизатом МСК. Культуру клеток разрушали, используя физико-химические методы [7].

Готовый препарат пептидов представлял собой прозрачную гомогенизированную жидкость малинового цвета.

Режим инстилляций в конъюнктивальную полость в опытной группе был следующим: с 1-х по 14-е сутки – шестикратно в течение часа, с 14-х по 30-е сутки – четырёхкратно в течение часа.

В контрольной группе инстилляцией 0,5%-го раствора моксифлоксацина и закладывание геля из депротеинизированного диализата телячьей крови за нижнее веко выполняли четырёхкратно в течение дня на протяжении 30 дней.

Состояние животных опытной и контрольной групп оценивали в течение первых 14 дней ежедневно, последующие наблюдения проводили 3 раза в неделю. Клинически оценивали наличие или отсутствие отделяемого для возможной корректировки противовоспалительной терапии.

На 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки в каждой группе двух животных выводили из эксперимента для проведения морфологического исследования роговицы. Ткань роговицы фиксировали в нейтральном забуференном 10%-м формалине и готовили серийные парафиновые срезы толщиной 3 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первые сутки оценить состояние роговицы посредством гистологического исследования было достаточно сложно ввиду выраженной глубины повреждения тканей роговицы. Различий между опытной и контрольной группами выявлено не было. По данным гистологического заключения, эпителий полностью отсутствовал, что можно связать с проводимой скарификацией струпа. Строма была значительно истончена и отёчна в местах, где имелась возможность оценить её структуру. Боуменова мембрана в большинстве срезов не визуализировалась. Десцеметова мембрана – без патологии. Эндотелий частично отсутствовал, на его поверхности отмечались обильные преципитаты. Данная гистологическая картина полностью соответствует термическому повреждению роговицы тяжёлой степени.

К 3-м суткам в опытной группе эпителий частично восстановился и отсутствовал лишь в отдельных срезах. Строма была значительно истончена, однако просветов, свидетельствующих о значительном отёке, не выявлялось. Десцеметова мембрана была полностью сохранена. Эндотелий – рыхлый с единичными преципитатами, которые свидетельствовали о циклитическом процессе внутри глаза.

На 7-й день в опытной группе эпителий присутствовал на всех срезах, что свидетельствовало о завершении эпителизации повреждённого участка роговицы. Однако сохранялся перинуклеарный отёк базального эпителия роговицы. Боуменова мембрана – без видимых изменений, так же, как и строма. Десцеметова мембрана – без патологии. Эндотелий был незначительно изрытлен, не исключено наличие преципитатов.

К 14-м суткам (рис. 1) в опытной группе выявлялась сохранная структура роговицы. Эпителий – без выраженных изменений. Боуменова мембрана чётко визуализировалась. В единичных срезах отмечалась субэпителиальная васкуляризация стромы в паралимбальной зоне, но с проявлениями стаза с некоторой эктазией просвета. Десцеметова мембрана была не изменена. Эндотелий – рыхлый, без выраженных изменений.

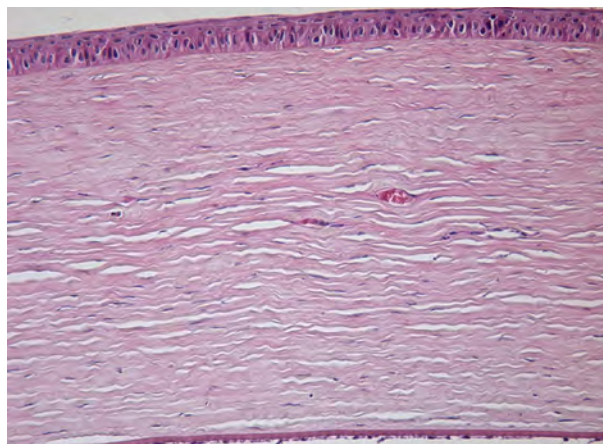


Рис. 1. Опытная группа, 14-е сутки. Эпителий структурирован, в стро-
ме единичный новообразованный сосуд с элементами
эктазии и стаза. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×100.

Fig. 1. Experimental group. Day 14. The epithelium is structured, there is
a single newly formed vessel with elements of ectasia and stasis
in the stroma. Hematoxylin-eosin staining. Magnification ×100.

На 30-й день (рис. 2) в роговице животных опытной группы, по данным гистологического исследования, в базальных отделах эпителия наблюдались перинуклеарные просветления. Боуменова мембрана была сохранена. Стромальная часть роговицы – с единичными новообразованными сосудами (в небольшом количестве), в средней трети – с явными проявлениями стаза и эктазией просвета сосудов, а также без увеличения числа кератоцитов. Десцеметова мембрана и эндотелий – без нарушений. Полученные данные говорят о полном завершении воспалительного процесса как на поверхности, так и внутри роговицы и о тенденции к восстановлению её структуры.

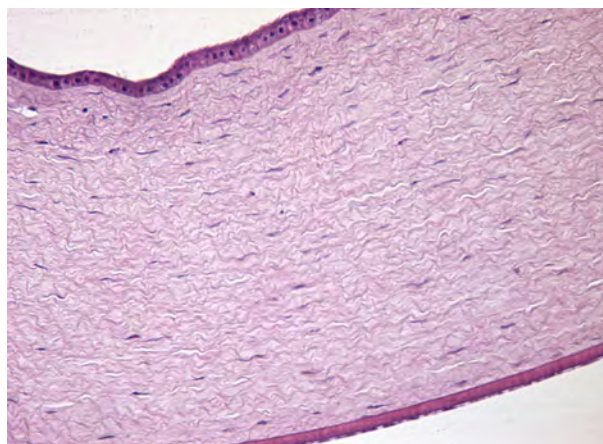


Рис. 2. Опытная группа, 30-е сутки. Эпителий упорядочен, сохранен,
строма, Десцеметова мембрана и эндотелий имеют нормальную
структуру. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×100.

Fig. 2. Experimental group. Day 30. The epithelium is ordered, preserved,
the stroma, the Descemet's membrane and the endothelium have a
normal structure. Hematoxylin-eosin staining. Magnification ×100.

В контрольной группе животных мы наблюдали значительно большие сроки восстановления роговицы и сохранение циклитической реакции, несмотря на получаемую терапию.

К 3-м суткам эпителий все ещё отсутствовал, строма, в отличие от опытной группы, была утолщена, деструктивна, с выраженным отёком. Десцеметова мембрана была полностью сохранена. Эндотелий рыхлый, с множеством преципитатов, свойственных циклитическому процессу.

К 7-м суткам в контрольной группе эпителий был эрозирован, с некрозами и очаговой воспалительной инфильтрацией. Боуменова мембрана дифференцировалась без видимых изменений. Строма – без выраженных изменений, но с истончением в зоне термического воздействия. Десцеметова мембрана была несколько утолщена. Эндотелий в свою очередь имел рыхлую структуру, возможно, с наличием преципитатов.

На 14-е сутки (рис. 3) в контрольной группе эпителий был без каких-либо выраженных изменений. Боуменова мембрана плохо визуализировалась. В срезах отмечалась субэпителиальная васкуляризация стромы (более выраженная, чем в опытной группе) в паралимбальной зоне, сосуды мелкого калибра, небольшой стаз без эктазии просвета. В редких срезах наблюдалось обильное вращение новообразованных сосудов в передние слои роговицы, формирование сосудистого бельма, поддержание отёка стромы. Десцеметова мембрана была не изменена. Эндотелий – редкий, уплотнённый, без выраженных изменений.

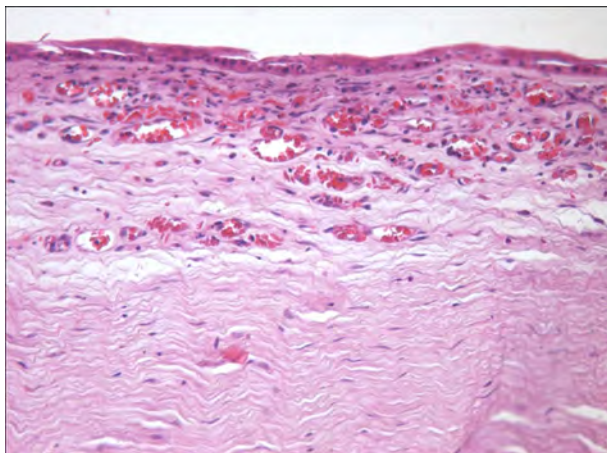


Рис. 3. Контрольная группа, 14-е сутки. Обильная субэпителиальная неоваскуляризация. Эпителий местами эрозирован, строма бесструктурна. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

Fig. 3. Control group. Day 14. Extensive subepithelial neovascularization. The epithelium is eroded in some places, the stroma is structureless. Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 200$.

К 30-му дню (рис. 4) эпителий представлялся несколько утолщённым и неравномерным. Здесь же имелся субэпителиальный пузырь с небольшим перифокальным фиброзом, характерный для васкуляризованного бельма роговицы. Боуменова мембрана дифференцировалась не на всём протяжении, что было связано с органическими поражениями роговицы. В строме – обильное прорастание новообразованных сосудов. Десцеметова мембрана и эндотелий – без видимых изменений.

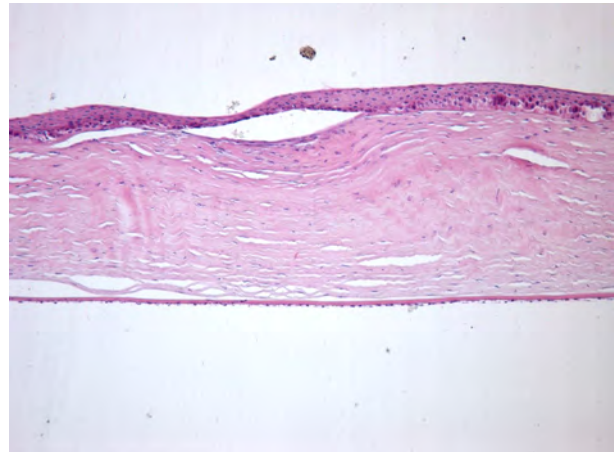


Рис. 4. Контроль, 30-е сутки. Эпителиальный слой сохранен. Субэпителиально и в глубоких слоях стромы новообразованные сосуды с фиброзом вокруг них. Десцеметова мембрана плохо визуализирована. Эпителий без патологии. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$.

Fig. 4. Control group. Day 30. The epithelial layer is preserved. Subepithelial and deep layers of the stroma have newly formed vessels with fibrosis around them. Descemet's membrane is poorly visualized. No pathology in epithelium. Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 100$.

Таким образом, полученные данные наглядно демонстрируют, что в опытной группе к концу срока наблюдения происходит восстановление клеточной структуры роговицы, в отличие от контроля, где восстановления структуры роговицы достичь не удалось. При этом следует отметить, что воспалительная реакция при применении пептидного препарата подавляется уже к 7-м суткам от момента лечения, тогда как в контрольной группе она сохраняется более 14 дней.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предпосылками создания пептидного препарата послужил тот факт, что в процессе регенерации повреждённого органа происходит активация лейкоцитов крови веществами, образующимися при разрушении тканей и органов. В результате проведённых исследований стало известно, что резекция паренхиматозных органов у экспериментальных животных вызывает изменение метаболической активности лейкоцитов, в особенности лимфоцитов [12]. Лимфоциты в свою очередь начинают продуцировать вещества, способные изменять скорость пролиферации и дифференцировки других, не лимфоидных клеток, как правило, стволовых и прогениторных клеток костного мозга, а также стволовых клеток, находящихся в паренхиматозных органах. Эта клеточная культура в процессе культивирования может продуцировать медиаторы и ростовые факторы, которые, как правило, призваны обеспечить оптимальные условия для пролиферации культивируемых клеток. Спектр продуцируемых веществ напрямую зависит от фенотипического состава культивируемых клеток, а также от факторов роста, которые были исходно привнесены в культуральную среду. Таким образом, в процессе культивирования клетки модифицируют культуральную среду, обогащая её продуктами своей жизнедеятельности. В результате получается пептидный препарат или композиция, состоящая из культуральной среды, обогащённой клеточными метаболитами, секретируемыми культивируемыми клетками, а также из

клеточного лизата, содержащего внутриклеточные белки, в том числе белки секреторных гранул [7, 11, 12].

Пептидный препарат открывает новые возможности в лечении ожогов глаз. Главным преимуществом этого препарата является отсутствие недостатков МСК (длительность культивирования, аутологический забор, непредсказуемость дифференцировки) при наличии большинства полезных свойств, присущих стволовым клеткам.

Проведённое нами исследование показало, что кондиционированная среда и лизат МСК обладают протективным и регенераторным эффектом при лечении экспериментального термического ожога роговицы. Мы наблюдали снижение уровня воспалительной реакции, что проявляется в уменьшении отёка, более быстром восстановлении поверхности роговицы, упорядочивании структуры стромы и исчезновении преципитатов с эндотелия у животных в опытной группе. Кроме того, в нашей предыдущей работе была продемонстрирована динамика восстановления прозрачности роговицы при ожогах глаз различной локализации [10].

Следует отдельно отметить, что, как было показано в ранее проведённых исследованиях, используемый нами препарат содержит достаточно высокие концентрации VEGF (до 1200 пг/мл), FGF (фактор роста тромбоцитов) и IGF (инсулиноподобный фактор роста) [7]. Однако при высоких концентрациях фактора роста сосудов мы наблюдали подавление неоваскулогенеза роговицы. Это может быть связано с инактивацией рецепторов к VEGF высокими концентрациями лиганда или с воздействием других факторов, секретируемых стволовыми клетками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённой нами работы были продемонстрированы противовоспалительные, антиапоптотические и прорегенераторные свойства пептидного препарата. Сам же пептидный препарат или композиция, состоящая из культуральной среды, обогащённой клеточными метаболитами (паракринными факторами), секретируемыми культивируемыми клетками, а также из клеточного лизата, содержащего внутриклеточные белки, в том числе белки секреторных гранул, показал возможность своего применения в течение месяца от момента вскрытия.

Комплекс проведённых нами исследований говорит о том, что применение паракринных факторов, полученных из стволовых клеток, является перспективным и может стать основой для создания новых высокоэффективных препаратов для лечения ожоговой болезни глаза, а также заболеваний, сопровождающихся развитием неоваскуляризации роговицы.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-07-00439 «Оценка эффективности лечения острой печёночной недостаточности путём морфометрического анализа повреждения гепатоцитов в эксперименте».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol.* 2000; 44(5): 415-425. doi: 10.1016/S0039-6257(00)00109-0

2. Pellegrini G, Rama P, Mavilio F, De Luca M. Epithelial stem cells in corneal regeneration and epidermal gene therapy. *J Pathol.* 2009; 217(2): 217-228. doi: 10.1002/path.2441

3. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ.* 2001; 79(3): 214-221.

4. Jonas JB, Rank RM, Budde WM. Immunologic graft reactions after allogenic penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 2002; 133(4): 437-443. doi: 10.1016/s0002-9394(01)01426-x

5. Thompson Jr RW, Price MO, Bowers PJ, Price Jr FW. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology.* 2003; 110(7): 1396-1402. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00463-9

6. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008; 2(4): 313-319. doi: 10.1016/j.stem.2008.03.002

7. Khubutiya MS, Vagabov AV, Temnov AA, Sklifas AN. Paracrine mechanisms of proliferative, anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of mesenchymal stromal cells in models of acute organ injury. *Cytotherapy.* 2014; 16(5): 579-585. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.07.017

8. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8(9): 726-736. doi: 10.1038/nri2395

9. Yagi H, Soto-Gutierrez A, Navarro-Alvarez N. Reactive bone marrow stromal cells attenuate systemic inflammation via sTNFR1. *Mol Ther.* 2010; 18(10): 1857-1864. doi: 10.1038/mt.2010.155

10. Белый Ю.А., Терещенко А.В., Кодунов А.М., Склифас А.Н., Новоселов В.И., Темнов А.А. Сравнительный анализ лечения термического ожога роговицы препаратом раствора пептидов и антиоксидантов. *Катарактальная и рефракционная хирургия.* 2016; 16(2): 41-45.

11. Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther.* 2012; 20(1): 14-20. doi: 10.1038/mt.2011.211

12. De Farias CC, Allemann N, Gomes JÁ. Randomized trial comparing amniotic membrane transplantation with lamellar corneal graft for the treatment of corneal thinning. *Cornea.* 2016; 35(4): 438-444. doi: 10.1097/ico.0000000000000754

REFERENCES

1. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol.* 2000; 44(5): 415-425. doi: 10.1016/S0039-6257(00)00109-0

2. Pellegrini G, Rama P, Mavilio F, De Luca M. Epithelial stem cells in corneal regeneration and epidermal gene therapy. *J Pathol.* 2009; 217(2): 217-228. doi: 10.1002/path.2441

3. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ.* 2001; 79(3): 214-221.

4. Jonas JB, Rank RM, Budde WM. Immunologic graft reactions after allogenic penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 2002; 133(4): 437-443. doi: 10.1016/s0002-9394(01)01426-x

5. Thompson Jr RW, Price MO, Bowers PJ, Price Jr FW. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology.* 2003; 110(7): 1396-1402. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00463-9

6. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008; 2(4): 313-319. doi: 10.1016/j.stem.2008.03.002

7. Khubutiya MS, Vagabov AV, Temnov AA, Sklifas AN. Paracrine mechanisms of proliferative, anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of mesenchymal stromal cells in models of acute organ injury. *Cytotherapy.* 2014; 16(5): 579-585. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.07.017

8. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8(9): 726-736. doi: 10.1038/nri2395

9. Yagi H, Soto-Gutierrez A, Navarro-Alvarez N. Reactive bone marrow stromal cells attenuate systemic inflammation via sTNFR1. *Mol Ther.* 2010; 18(10): 1857-1864. doi: 10.1038/mt.2010.155

10. Belyi YuA, Tereshchenko AV, Kodunov AM, Sklifas AN, Novoselov VI, Temnov AA. Comparative analysis of the treatment of corneal burns with a solution of peptides and antioxidants.

Kataraktalnaya i refrakcionnaya khirurgiya. 2016; 16(2): 41-45. (In Russ.)

11. Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther.* 2012; 20(1): 14-20. doi: 10.1038/mt.2011.211

12. De Farias CC, Allemann N, Gomes JÁ. Randomized trial comparing amniotic membrane transplantation with lamellar corneal graft for the treatment of corneal thinning. *Cornea.* 2016; 35(4): 438-444. doi: 10.1097/ico.0000000000000754

Сведения об авторах

Терещенко Александр Владимирович – доктор медицинских наук, директор, Калужский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3212-4687>

Трифаненкова Ирина Георгиевна – кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе, Калужский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9202-5181>

Кодунов Алексей Михайлович – врач-офтальмолог, Калужский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8989-3188>

Темнов Андрей Александрович – доктор медицинских наук, заместитель заведующей лабораторией специальных клеточных технологий, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2141-1613>

Склифас Алла Николаевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБН Институт биофизики клетки Российской академии наук, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0845-3007>

Information about the authors

Aleksandr V. Tereshchenko – Dr. Sc. (Med.), Director, Kaluga Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3212-4687>

Irina G. Trifanenkova – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director for Science, Kaluga Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9202-5181>

Aleksey M. Kodunov – Ophthalmologist, Kaluga Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8989-3188>

Andrey A. Temnov – Dr. Sc. (Med.), Deputy Head of the Laboratory of Special Cell Technologies, Moscow Institute of Physics and Technology, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2141-1613>

Alla N. Sklifas – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer, Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru, nauka2@mntk.kaluga.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0845-3007>

Статья получена: 28.03.2019. Статья принята: 28.05.2019. Статья опубликована: 26.08.2019.
Received: 28.03.2019. Accepted: 28.05.2019. Published: 26.08.2019.