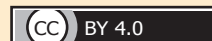


Кератопластика высокого риска с применением кондиционированных сред мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте

А.В. Терещенко^{1,2} И.Г. Трифаненкова^{1,2}А.А. Темнов³, Ю.Д. Булатова¹, С.Н. Демьянченко¹, А.Н. Склифас³,
А.В. Щацких⁴, Д.А. Шатаев¹, Р.Б. Иолчиев¹¹ Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация² Медицинский институт ФГБОУ ВО «Калужский государственный университет им. Н.Э. Циолковского»
ул. С. Разина, 26, Калуга, 248023, Российская Федерация³ Институт биофизики клетки РАН — обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр
«Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
ул. Институтская, 3, Пущино Московская область, 142290, Российская Федерация⁴ ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2024;21(3):604–611**Цель:** в эксперименте оценить динамику и интенсивность прорастания сосудов в роговице донора при кератопластике на фоне предсуществующего неоваскуляризации при применении кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток (КС-МСК).**Материалы и методы.** Объектом исследования явились 15 кроликов (10 кроликов-реципиентов, 5 кроликов-доноров) породы серая шиншилла весом 2,5–3,2 кг. Эксперименты выполнялись в два этапа. На первом этапе 10 животным по отработанной ранее методике формировали термический ожог периферической зоны роговицы с захватом лимбальной зоны на левом глазу, правый глаз оставался интактным. Сквозная кератопластика проводилась по стандартной технологии на 15 сутки десяти экспериментальным животным. На втором этапе формировались опытная и контрольная группа по 5 кроликов (5 глаз) в каждой. В послеоперационном периоде в опытной группе в качестве лечения применяли инстилляцию КС-МСК с 1-х по 30-е сутки четырехкратно. Кроликам-реципиентам контрольной группы проводилось лечение путем закапывания антибиотиков (Офтаквикс) и кератопротекторов (Корнерегель) трехкратно в течение 30 дней. Методы исследования включали биомикроскопию, фоторегистрацию переднего отрезка глаза, исследование на приборе Pentacam AXL, гистологическое исследование. Сроки наблюдения составили 1, 3, 7, 14, 30-е сутки. **Результаты.** Клинические результаты послеоперационного лечения, а также заключение гистологического исследования показали наличие антиангиогенного эффекта КС-МСК. Отсутствие выраженной васкуляризации донорской роговицы, ослабление воспалительного процесса, а также формирование рубца на 30-й день в послеоперационном периоде в основной группе подтвердили эффективность КС-МСК. В контрольной группе с седьмых суток развивалась болезнь трансплантата. **Заключение.** Полученные в ходе настоящей работы результаты представляются многообещающими. Применение раствора КС-МСК продемонстрировало достаточно выраженную эффективность по сравнению со стандартной медикаментозной терапией в послеоперационном периоде после сквозной кератопластики высокого риска у экспериментальных животных, проведенной на модели постожогового неоваскулярного бельма роговицы.**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, кондиционированная среда, неоваскуляризация роговицы, кератопластика высокого риска, эксперимент**Для цитирования:** Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Темнов А.А., Булатова Ю.Д., Демьянченко С.Н., Склифас А.Н., Щацких А.В., Шатаев Д.А., Иолчиев Р.Б. Кератопластика высокого риска с применением кондиционированных сред мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте. *Офтальмология*. 2024;21(3):604–611. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2024-3-604-611>

Прозрачность финансовой деятельности: работа содержит материалы исследования, выполненного за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10091 «Изучение антиангиогенных эффектов паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации роговицы в эксперименте», <https://rscf.ru/project/23-25-10091/>, и за счет гранта в форме субсидии из бюджета Калужской области.

Конфликт интересов отсутствует.

High-Risk Keratoplasty Using Conditioned Media of Mesenchymal Stem Cells in an Experiment

A.V. Tereshchenko^{1,2}, I.G. Trifanenkova^{1,2}, A.A. Temnov³, Y.D. Bulatova¹, S.H. Demyanchenko¹, A.N. Sklifas³, A.V. Shchatskiikh⁴, D.A. Shataev¹, R.B. Iolchiev¹

¹ Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007, Russian Federation

² Kaluga State University named after K.E. Tsiolkovski
Stepan Razin str., 26, Kaluga, 248023, Russian Federation

³ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences is a separate division
of the "Federal Research Center "Pushchino Scientific Center
for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"
Institutskaya str., 3, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation

⁴ The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Beskudnikovskiy Blvd, 59a, Moscow, 127486, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2024;21(3):604–611

Purpose: to evaluate in experiment the dynamics and intensity of vascular sprouting in the donor cornea during keratoplasty against the background of pre-existing neoangiogenesis when using a conditioned medium of mesenchymal stem cells. **Materials and methods.** The object of the study was 15 rabbits (10 recipient rabbits, 5 donor rabbits) of the gray Chinchilla breed weighing 2.5–3.2 kg. The experiments were carried out in two stages. At the first stage, 10 animals were simulated with a unilateral thermal burn of the peripheral zone of the cornea with limbal involvement. Penetrating keratoplasty was performed using standard technology on the 15th day of the experiment. At the second stage, the recipient rabbits were divided into experimental and control groups. 5 rabbits, 5 eyes, in the control group and 5 rabbits, 5 eyes, in the main group. In the main group, instillations of paracrine factors of mesenchymal stem cells were used as postoperative treatment from the 1st to the 30th knocks four times. In the control group, treatment was carried out by instillation of antibiotics (Oftraquix) and keratoprotectors (Korneregel) three times for 30 days. Research methods included biomicroscopy, photographic recording of the anterior segment of the eye, examination using a Pentacam AXL device, and histological examination. The observation periods were 1st, 3rd, 7th, 14th, 30th day. **Results.** The results of postoperative treatment at the second stage of the experiment, as well as the results of histology, showed a pronounced antiangiogenic effect of the conditioned medium of mesenchymal stem cells. This was confirmed by the absence of pronounced vascularization of the donor cornea, the attenuation of the inflammatory reaction and the formation of a scar on the 30th day of drug instillation. In the control group, graft disease developed from the seventh day. **Conclusion.** The results obtained during the work seem promising. The use of the conditioned medium of mesenchymal stem cells demonstrated a sufficiently pronounced effectiveness compared with standard drug therapy in the postoperative period after high-risk end-to-end keratoplasty in experimental animals performed on a model of post-burn corneal neovascularization.

Keywords: mesenchymal stem cells, conditioned medium, corneal neovascularization, high-risk keratoplasty, experiment

For citation: Tereshchenko A.V., Trifanenkova I.G., Temnov A.A., Bulatova Yu.D., Demyanchenko S.H., Sklifas A.N., Shchatskiikh A.V., Shataev D.A., Iolchiev R.B. High-Risk Keratoplasty Using Conditioned Media of Mesenchymal Stem Cells in an Experiment. *Ophthalmology in Russia*. 2024;21(3):604–611. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2024-3-604-611>

Financial Disclosure: The work contains materials from a study carried out at the expense of the Russian Science Foundation grant No. 23-25-10091 "Study of the antiangiogenic effects of paracrine factors of mesenchymal stem cells during corneal transplantation in experiment". There is no conflict of interests. <https://rscf.ru/project/23-25-10091/>, and through a grant in the form of a subsidy from the budget of the Kaluga region.

There is no conflict of interests.

АКТУАЛЬНОСТЬ

У 7,5–27 % пациентов, поступающих в ожоговые отделения, наблюдается поражение глаз и периорбитальной области [1, 2]. В большинстве случаев ожоговые повреждения глаз происходят у молодого и трудоспособного населения и по разным данным составляют от 4,2 до 38,4 % всех глазных травм [3]. Ежегодно более 2000 случаев кератопластики проводится в нашей стране при посттравматических, дистрофических и других патологиях роговицы различной этиологии. После сквозной кератопластики ожидаемый уровень 10-летней выживаемости трансплантата, по данным К. Inoue и соавт., составлял 79,3 % [4]. Однако только в 20–45 % случаев получается достигнуть прозрачное приживление роговичного трансплантата у пациентов группы высокого риска, например с постожевыми бельмами [5].

Роговица — аваскулярная прозрачная «иммунопривилегированная» ткань глаза [6]. Ожоговая травма приводит к дисбалансу про- и антиангиогенных факторов, которые индуцируют неоваскуляризацию (НВ) роговицы [7]. Процесс НВ роговицы состоит из двух основных звеньев: ангио- и лимфангиогенеза, что приводит к нарушению прозрачности роговицы, а при кератопластике угрожает прогнозу прозрачного приживления донорской ткани [8, 9]. Ангиогенез роговицы индуцируется избыточным уровнем различных проангиогенных факторов (фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), матриксные металлопротеиназы (ММП) и др.) [10–15]. Сформированные новообразованные сосуды не обладают структурной целостностью и пропускают жидкость в интерстициальное пространство, что может привести к кровоизлияниям, экссудативным реакциям и фиброзу.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК), обнаруженные в тканях человека, обладают значительным пролиферативным потенциалом, способностью к самообновлению и дифференцировке в другие типы клеток, а также воздействием на иммунную систему. Именно это свойство привлекло внимание к МСК в плане возможности применения при терапевтическом лечении роговицы.

В экспериментальных работах МСК демонстрируют низкую экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса II и имеют свойство «ускользнуть» от контроля со стороны иммунной системы [16, 17]. Существует также теория, согласно которой МСК способны дифференцироваться в эпителиальные клетки роговицы [18]. Есть предположение, что МСК ингибируют воспаление и сопряженный с ним ангиогенез [19]. В обзоре экспериментальных исследований, проведенном В. Bhujel и соавт. (2023), было отмечено, что МСК считаются перспективным средством регенерации роговицы, в том числе при ее тяжелых повреждениях, вызванных физическими, химическими и генетическими факторами [20].

Применение МСК ограничено в клинической практике в РФ, поэтому мы посчитали перспективным изучить возможность применения при тяжелых повреждениях роговицы кондиционированных сред, содержащих паракринные факторы МСК (КС-МСК). Согласно имеющимся данным, КС-МСК обладает выраженным регенераторным потенциалом и способствует активации процессов репарации. Применение КС-МСК позволяет обойти ограничения, связанные с клеточной терапией, что обеспечивает упрощенную технологию производства, хранения и использования препарата. Кроме того, использование паракринных факторов МСК позволяет по-новому взглянуть на возможности клеточной терапии с точки зрения проактивных белковых соединений, влияющих на процессы ангиогенеза.

Цель — в эксперименте оценить динамику и интенсивность прорастания сосудов в роговице донора при кератопластике на фоне предсуществующего неоваскуляризации при применении КС-МСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились 15 кроликов (10 кроликов-реципиентов, 5 кроликов-доноров) породы серая шиншилла весом 2,5–3,2 кг. Эксперименты выполнены в два этапа.

Термический односторонний ожог периферической зоны роговицы с захватом лимбальной зоны формировали на первом этапе у 10 кроликов-реципиентов. Ожоговое повреждение роговицы индуцировалось по ранее отработанной методике [21]. По данным исследования, проведенного группой авторов из Калужского филиала МНТК в 2021 г., при использовании указанной модели индуцирования термического повреждения роговицы к 7-м суткам достигается интенсивное прорастание сосудов лимбальной сети в роговицу с образованием неоваскулярного бельма на 14-е сутки эксперимента [22].

10 кроликам-реципиентам на 15-е сутки после моделирования термического ожога была выполнена сквозная кератопластика по стандартной методике под масочным ингаляционным наркозом. Предварительная обработка операционного поля проводилась с использованием 0,5% раствора хлоргексидина двукратно.

Из роговицы глаза кролика-реципиента посредством механического трепана выкраивали сквозной роговичный диск диаметром 8,0 мм и удаляли его. При помощи механического трепана диаметром 8,25 мм донорский трансплантат выкраивали из роговицы кролика-донора, глаз которого предварительно энуклеировали. Полученный таким образом донорский трансплантат помещали на подготовленное роговичное ложе реципиента. Посредством четырех узловых провизорных швов 8-0 донорский трансплантат фиксировали к роговице реципиента. Далее накладывали 16 узловых швов 10-0, после этого провизорные швы снимали. Объем передней камеры восполняли, используя раствор NaCl 0,9 %.

На втором этапе эксперимента кролики, перенесшие сквозную кератопластику, были случайным образом разделены на две группы: опытную и контрольную — 5 кроликов (5 глаз). Лечение животных, вошедших в опытную группу, в послеоперационном периоде заключалось в инстилляциях в конъюнктивальную полость КС-МСК с частотой 4 раза в день, начиная с первых и заканчивая тридцатыми сутками после сквозной кератопластики. Лечение животных в группе контроля в послеоперационном периоде включало инстилляцию антибиотика (Офтаквикс) и кератопротектора (Корнерегель) 3 раза в день в течение 30 дней после сквозной кератопластики.

На 1, 3, 7, 14, 30-е сутки животным обеих групп проводили офтальмологическое обследование методом биомикроскопии, а также выполняли исследование на корнеотопографе Pentacam AXL (Oculus, Германия), а также фторорегистрацию переднего отрезка глаза.

КС-МСК получали по оригинальной методике, разработанной в 2006 г. группой авторов: А.С. Ботин, Н.А. Онищенко, А.А. Темнов [23].

Для проведения гистологического исследования в сроки 1, 3, 7, 14, 30-е сутки из опыта и контроля выводили по одному животному.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Учитывая отработанную и полностью охарактеризованную модель термического ожога [21, 22], наибольший интерес в данном эксперименте представляли посткератопластические результаты на фоне предсуществующего неоваскулогенеза.

На момент проведения кератопластики индуцированные неоваскуляризированное бельмо у животных опытной и контрольной групп было идентично по площади, глубине, плотности неоваскулярной сети.

Биомикроскопия, выполненная в обеих группах на 1-е сутки, выявила следующее: легкая светобоязнь, трансплантат роговицы умеренно отечный, фиксирован узловыми швами, швы чистые, состоятельные, передняя камера равномерная, средней глубины, влага прозрачная. Радужка структурная, диаметр зрачка 3 мм, экссудативная пленка в плоскости зрачка, хрусталик прозрачный, рефлекс незначительно снижен.

На 3-и сутки в контрольной группе по сравнению с основной глаза экспериментальных животных были раздражены, наблюдалось умеренное слизистое отделяемое. Стромальный отек трансплантата в оптической зоне в контрольной группе был более выражен по сравнению с трансплантатом роговицы в основной группе. В обеих группах передняя камера оставалась равномерной средней глубины, влага

прозрачная. В основной группе сохранялись остаточные фрагменты экссудативной пленки по зрачковому краю. В контрольной группе сформированная экссудативная мембрана закрывала около 1/3 просвета зрачка с увеличением плотности по сравнению с первыми сутками эксперимента.

На 7-е сутки у животных в контроле стромальный отек трансплантата значительно усилился по сравнению с опытными животными. Узловые швы оставались состоятельными, однако появилось незначительное провисание части швов. Сформировалась неоваскуляризация донорской роговицы протяженностью с 3 до 9 часов с прорастанием в строму на 4 мм. В основной группе донорская роговица оставалась прозрачной, без признаков неоваскуляризации.

При биомикроскопии на 14-е сутки в опытной группе сохранялась прозрачность трансплантата, при этом выявилось наличие в нем единичных новообразованных сосудов с прорастанием до 1 мм. Узловые швы по-прежнему были состоятельны, хрусталик прозрачный, рефлекс розовый. В контрольной группе глаз был раздраженным, с умеренным слизистым отделяемым. Выявлено увеличение стромального отека трансплантата, провисание узловых швов, нарастание неоваскуляризации трансплантата роговицы с прорастанием на 5–6 мм. В контрольной группе визуализация передней камеры, радужки, хрусталика была затруднена в связи с непрозрачностью роговицы.

В опытной группе на 30-е сутки состояние глаза оставалось прежним, продолженного роста новообразованных сосудов в донорскую роговицу не выявлялось, трансплантат роговицы был прозрачным (рис. 1а). При этом в контрольной группе трансплантат характеризовался значительным отеком, был мутным, из собственной роговицы циркулярно прорастало множество поверхностных и глубоких сосудов длиной 6–7 мм. Узловые швы провисали, отмечалось единичное прорезывание швов. Глубжележащие среды — за флером (рис. 1б).

По результатам гистологического исследования в опытной группе наблюдался пролиферативный процесс на всех сроках эксперимента. Трансплантат во всех



Рис. 1. Фотография переднего отрезка глаза кролика на 30-е сутки после кератопластики: а — опытная группа; б — контрольная группа

Fig. 1. Photograph of the anterior segment of the rabbit's eye on the 30th day after keratoplasty: а — experimental group; б — control group

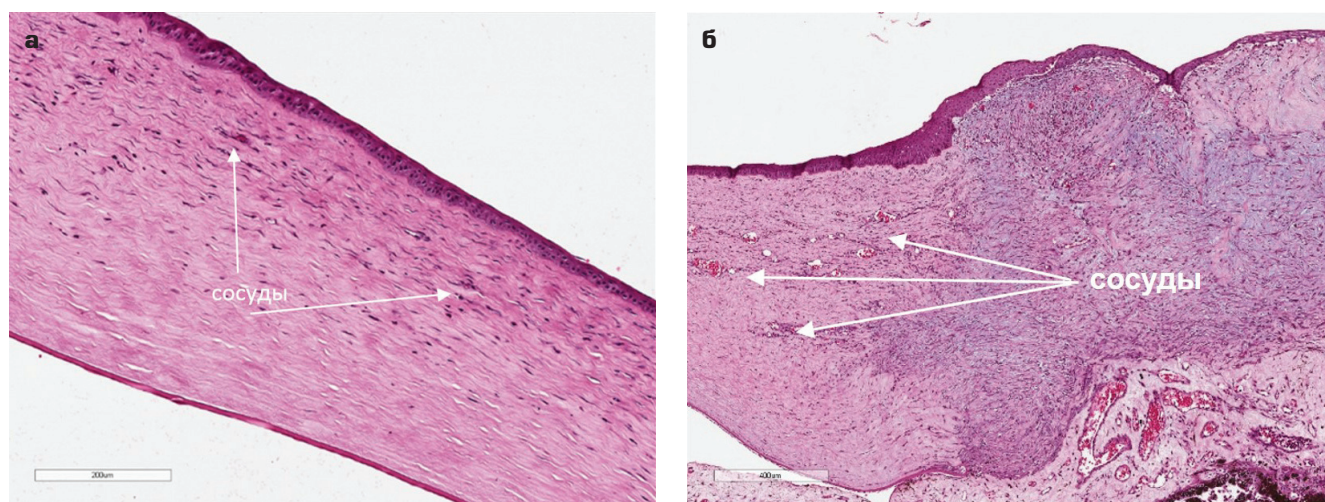


Рис. 2. Гистологические исследования роговицы кролика на 30-е сутки эксперимента: а — опытная группа, окраска гематоксилин-эозин, ув. $\times 200$; б — контрольная группа, окраска гематоксилин-эозин, ув. $\times 400$

Fig. 2. Histological examination of the rabbit cornea on the 30th day of the experiment: а — experimental group, hematoxylin-eosin staining, magnification $\times 200$; б — control group, hematoxylin-eosin staining, magnification $\times 400$

случаях был сохранен, с признаками различной степени клеточной инфильтрации и неоваскуляризации, менее активной, чем в контрольной группе. Обнаруживались единичные новообразованные сосуды капиллярного типа в передних слоях стромы трансплантата, особенно на поздних сроках эксперимента. К 30-м суткам наблюдалась стабилизация процесса с затуханием воспалительных явлений и организацией рубца (рис. 2а).

В контрольной группе отмечался более выраженный, чем в опытной, пролиферативный процесс на фоне интенсивных воспалительных явлений. На ранних сроках (1–3-и сутки) состояние трансплантата в обеих группах практически не отличалось, обращал на себя внимание застой и полнокровие сосудов радужки. Имела место также значительная выраженность пролиферативных процессов в области раневых каналов с их расширением даже на поздних сроках, признаков затухания этого процесса не наблюдалось, несмотря на уменьшение воспалительных явлений. Исключением из общей динамики процессов можно считать 14-е сутки эксперимента в контрольной группе, в которой воспалительные явления привели к деструктивному процессу, расплавлению роговицы и ее фистулизации. Неоваскуляризация трансплантата в контрольной группе протекала активно и занимала около 2/3 стромы (рис. 2б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сквозная кератопластика является одним из ведущих способов хирургического лечения бельма роговицы, однако предсущствующая васкуляризация роговицы связана с повышенным риском отторжения трансплантата. На сегодня доказано, что стимуляция иммунных процессов является основной преградой для прозрачного приживления роговицы. Лимфатические сосуды

облегчают транспортировку антиген-презентирующих клеток (АПК) из трансплантата в регионарные лимфоидные ткани, где АПК затем могут «презентовать» аллоантигены недифференцированным Т-клеткам хозяина. Развитие аллоотторжения, в свою очередь, связано с новообразованными кровеносными сосудами, которые улучшают проникновение эффекторных Т-клеток в трансплантат [24]. В связи с этим ангио- и лимфангиогенез при пересадке роговицы требуют особого внимания [7, 25–27].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) — класс мультипотентных клеток, обнаруженных в различных тканях человека. Эти клетки способны дифференцироваться в другие типы клеток, а также воздействовать на иммунную систему посредством секреции противовоспалительных цитокинов. Именно это свойство привлекло внимание к МСК в терапевтическом лечении повреждений роговицы [28]. Недавние исследования продемонстрировали два разных механизма воздействия МСК на регенерацию эпителия роговицы: прямая дифференцировка МСК в эпителиоподобные клетки роговицы и регенерация, косвенно опосредованная секрецией противовоспалительных факторов и факторов роста, усиливающих регенерацию эндогенной поверхности глаза [29–31].

Zhang и соавт. показали, что МСК способны уменьшать воспаление в роговице крыс, подвергшейся химическому воздействию [32].

В исследовании Ма и соавт. была продемонстрирована регенерация поврежденной роговицы крыс после обработки человеческими МСК (чМСК). Результаты исследования позволили предположить, что чМСК способны ингибировать воспалительную реакцию и сопутствующий ангиогенез. Экспрессия CD45, общего

лейкоцитарного антигена, и интерлейкина 2 (IL-2) была значительно снижена, что является признаком противовоспалительного действия. Кроме того, матриксная металлопротеиназа 2 (ММР-2), являющаяся модулятором ангиогенеза, связанного с воспалением, не была обнаружена в поврежденной роговице крыс, обработанной чМСК [19]. Другие исследования также продемонстрировали экспрессию МСК некоторых маркеров эпителиальных клеток роговицы, таких как p63, CK3/12, β 1-интегрин, ABCG2 и C/EBP-дельта. Данные этих исследований доказывают потенциал МСК для индукции регенерации поверхности глаза на животных моделях с повреждением эпителия роговицы [33–38].

Законодательные ограничения по применению МСК в отечественной клинической практике, а также широкий потенциал кондиционированных сред, содержащих паракринные факторы МСК (КС-МСК), инициировали проведение настоящего исследования. Ранее было доказано, что лечебный эффект МСК, по крайней мере частично, обусловлен паракринными трофическими факторами, выделяемыми клетками, а множественные факторы роста, цитокины и белки внеклеточного матрикса, входящие в состав питательных сред МСК, также обладают терапевтическим эффектом [39].

Результаты послеоперационного лечения и гистологического исследования на втором этапе эксперимента доказали выраженный антиангиогенный эффект КС-МСК, что проявлялось отсутствием выраженной васкуляриза-

ции трансплантата, снижением воспалительной реакции и формированием рубца на 30-й день применения препарата. В контрольной группе начиная с 7-х суток наблюдения постепенно развивалась болезнь трансплантата, проявляющаяся отеком и уменьшением прозрачности роговицы, появлением выраженной неоваскуляризации трансплантата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе настоящей работы результаты представляются многообещающими. Применение раствора КС-МСК продемонстрировало достаточно выраженную эффективность по сравнению со стандартной медикаментозной терапией в послеоперационном периоде после сквозной кератопластики высокого риска у экспериментальных животных, выполненной на модели постожогового неоваскулярного бельма роговицы.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Терещенко А.В. — разработка и дизайн исследования, окончательное утверждение рукописи;
Трифаненкова И.Г. — критический пересмотр в части значимого интеллектуального содержания, редактирование текста;
Темнов А.А. — разработка и дизайн исследования, получение и очистка препарата;
Булатова Ю.Д. — сбор исходных данных, написание текста статьи, подготовка иллюстраций;
Демьянченко С. К. — сбор исходных данных, написание текста статьи;
Склифас А.Н. — разработка и дизайн исследования, получение и очистка препарата;
Шацких А.В. — анализ и интерпретация данных, редактирование текста;
Шатаев Д.А. — сбор исходных данных, подготовка иллюстраций;
Иолчиев Р.Б. — сбор исходных данных, подготовка иллюстраций.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kaplan AT, Yalcin SO, Günaydin NT, Kaymak NZ, Gün RD. Ocular-periocular burns in a tertiary hospital: Epidemiologic characteristics. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2023;76:208–215. doi: 10.1016/j.bjps.2022.10.049.
- Raman M, Ijaz S, Baljit D. The management of Eyelid Burns. *Survey of ophthalmology.* 2009;54(3):356–371. doi: 10.1016/j.survophthal.2009.02.009.
- Пятыхина ОВ, Шалаева ЕЮ, Костив ВЯ. Частота и исходы ожоговой травмы органа зрения. Современные технологии в офтальмологии. 2022;2:254–259. Pyatyshina OV, Shalaeva EYu, Kostiv VYa. Frequency and outcomes of burn injuries of the organ of vision. *Modern technologies in ophthalmology.* 2022;2:254–259 (In Russ.). doi: 10.25276/2312-4911-2022-2-254-259.
- Inoue K, Amano S, Oshika T, Tsuru T. Risk factors for corneal graft failure and rejection in penetrating keratoplasty. *Acta Ophthalmol Scand.* 2001;79(3):251–255. doi: 10.1034/j.1600-0420.2001.790308.x.
- Ситник ГВ. Особенности фармакотерапии после фемтокератопластики у больных с кератоконусом. Современные технологии в офтальмологии. 2014;4:65. Sitnik GV. Features of pharmacotherapy after femtokeratoplasty in patients with keratoconus. *Modern technologies in ophthalmology.* 2014;4:65 (In Russ.).
- Niederhorn JY. Corneal transplantation and immune privilege. *Int Rev Immunol.* 2013;32(1):57–67. doi: 10.3109/08830185.2012.737877.
- Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol.* 2001;12(4):242–249. doi: 10.1097/00055735-200108000-00002.
- Azar DT. Corneal angiogenic privilege: angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis, and wound healing (an American Ophthalmological Society thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2006;104:264–302.
- Stevenson W, Cheng SF, Dastjerdi MH, Ferrari G, Dana R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *Ocul Surf.* 2012;10:67–83. doi: 10.1016/j.jtos.2012.01.005.
- Abdelfattah NS, Amgad M, Zayed AA, Hussein H, El-Baky NA. Molecular underpinnings of corneal angiogenesis: advances over the past decade. *International Journal of Ophthalmology.* 2016;9:768–779. doi: 10.18240/ijo.2016.05.24.
- Al-Debsi T, Al-Bekairy A, Al-Katheri A, Al-Harbi S, Mansour M. Topical versus subconjunctival anti-vascular endothelial growth factor therapy (Bevacizumab, Ranibizumab and Aflibercept) for treatment of corneal neovascularization. *Saudi Journal of Ophthalmology.* 2017;31:99–105. doi: 10.1016/j.sjopt.2017.02.008.
- Johnson KE, Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014;3:647–661. doi: 10.1089/wound.2013.0517.
- Mizia-Malarz A, Sobol G, Wos H. Proangiogenic factors: vascular-endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor--the characteristics and function. *Przegl Lek.* 2008;65:353–357.
- Niu G, Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets.* 2010;11:1000–1017. doi: 10.2174/138945010791591395.
- Voiculescu OB, Voinea LM, Alexandrescu C. Corneal neovascularization and biological therapy. *Journal of Medicine and Life.* 2015;8:444–448.
- Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol.* 2003;31(10):890–896. doi: 10.1016/s0301-472x(03)00110-3.
- Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond).* 2005;2:8. doi: 10.1186/1476-9255-2-8.
- Yao L, Bai H. Review: mesenchymal stem cells and corneal reconstruction. *Mol Vis.* 2013;19:2237–2243.
- Ma Y, Xu Y, Xiao Z, Yang W, Zhang C, Song E, Du Y, Li L. Reconstruction of chemically burned rat corneal surface by bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2006;24(2):315–321. doi: 10.1634/stemcells.2005-0046.
- Bhujel B, Oh SH, Kim CM, Yoon YJ, Kim YJ, Chung HS, Ye EA, Lee H, Kim JY. Mesenchymal Stem Cells and Exosomes: A Novel Therapeutic Approach for Corneal Diseases. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):10917. doi: 10.3390/ijms241310917.
- Кодунов АМ, Темнов АА, Терещенко АВ, Трифаненкова ИГ, Склифас АН, Шацких АВ. Механизмы влияния кондиционированной среды культивированных стволовых клеток на развитие патологического ангиогенеза роговицы глаза в эксперименте. *Патогенез.* 2022;19(4):41–52. Kodunov AM, Temnov AA, Tereshchenko AV, Trifanenkova IG, Sklifas AN, Shatskikh AV. Mechanisms of influence of the conditioned medium of cultured stem cells on the development of pathological angiogenesis of the cornea in experiment. *Pathogenesis.* 2022;19(4):41–52 (In Russ.). doi: 10.25557/2310-0435.2021.04.41-52.
- Кодунов АМ, Терещенко АВ, Трифаненкова ИГ, Темнов АА, Склифас АН, Ерохина ЕВ, Демьянченко СК, Шацких АВ. Влияние раствора пептидов на процессы ангиогенеза роговицы крыс в эксперименте. *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2021;17(2):314–318. Kodunov AM, Tereshchenko AV, Trifanenkova IG, Temnov AA, Sklifas AN, Erokhina EV, Demyanchenko SK, Shatskikh AV. The influence of a peptide solution on the processes of angiogenesis of the cornea of rats in an experiment. *Saratov scientific and medical journal.* 2021;17(2):314–318 (In Russ.).

23. Ботин АС, Онищенко НА, Темнов АА. Композиция для стимулирования роста и регенерации клеток, а также способы ее получения. Патент RU 2341270 10.07.2008.
Botin AS, Onishchenko NA, Temnov AA. A composition for stimulating cell growth and regeneration, as well as ways to obtain it. Patent RU 2341270, 10.07.2008 (In Russ.).
24. Niederkorn JY. High-risk corneal allografts and why they lose their immune privilege. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10:493–497. doi: 10.1097/ACI.0b013e32833dffa11.
25. Chang JH, Garg NK, Lunde E, Han KY, Jain S, Azar DT. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review. *Surv Ophthalmol*. 2012;57:415–429. doi: 10.1016/j.survophthal.2012.01.007.
26. Cursiefen C, Chen L, Borges LP, Jackson D, Cao J, Radziejewski C, D'Amore PA, Dana MR, Wiegand SJ, Streilein JW. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest*. 2004;113:1040–1050. doi: 10.1172/JCI20465.
27. Cursiefen C, Chen L, Dana MR, Streilein JW. Corneal lymphangiogenesis: evidence, mechanisms, and implications for corneal transplant immunology. *Cornea*. 2003;22:273–281.
28. Wang J, Chen Z, Sun M, Xu H, Gao Y, Liu J, Li M. Characterization and therapeutic applications of mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Tissue and Cell*. 2020;64:101330. doi: 10.1016/j.tice.2020.101330.
29. Nieto-Nicolau N, Martín-Antonio B, Müller-Sánchez C, Casaroli-Marano RP. In vitro potential of human mesenchymal stem cells for corneal epithelial regeneration. *Regen Med*. 2020;15(3):1409–1426. doi: 10.2217/rme-2019-0067.
30. Salih M, Shaharuddin B, Abdelrazeg S. A concise review on mesenchymal stem cells for tissue engineering with a perspective on ocular surface regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2020;15(3):211–218. doi: 10.2174/1574888X15666200129145251.
31. Wang W, Li S, Xu L, Jiang M, Li X, Zhang Y, Tighe S, Zhu Y, Li G. Differential gene expression between limbal niche progenitors and bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Int J Med Sci* 2020;17(4):549–557. doi: 10.1510/ijms.40881.
32. Zhang L, Coulson-Thomas VJ, Ferreira TG, Kao WW. Mesenchymal stem cells for treating ocular surface diseases. *BMC Ophthalmol*. 2015;15:155. doi: 10.1186/s12886-015-0138-4.
33. Di G, Du X, Qi X, Zhao X, Duan H, Li S, Xie L, Zhou Q. Mesenchymal Stem Cells Promote Diabetic Corneal Epithelial Wound Healing Through TSG-6-Dependent Stem Cell Activation and Macrophage Switch. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(10):4344–4354. doi: 10.1167/iov.17-21506.
34. Holan V, Trosan P, Cejka C, Javorkova E, Zajicova A, Hermankova B, Chudickova M, Cejkova J. A Comparative Study of the Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells and Limbal Epithelial Stem Cells for Ocular Surface Reconstruction. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(9):1052–1063. doi: 10.5966/sctm.2015-0039.
35. Pınarlı FA, Okten G, Beden U, Fışgın T, Kefeli M, Kara N, Duru F, Tomak L. Keratinocyte growth factor-2 and autologous serum potentiate the regenerative effect of mesenchymal stem cells in cornea damage in rats. *Int J Ophthalmol*. 2014;7(2):211–219. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2014.02.05.
36. Rohaina CM, Then KY, Ng AM, Halim WA, Zahidin AZ, Saim A, Idrus RB. Reconstruction of limbal stem cell deficient corneal surface with induced human bone marrow mesenchymal stem cells on amniotic membrane. *Transl Res*. 2014;163(3):200–210. doi: 10.1016/j.trsl.2013.11.004.
37. Sánchez-Abarca LI, Hernández-Galilea E, Lorenzo R, Herrero C, Velasco A, Carrancio S, CaballeroVelázquez T, Rodríguez-Barbosa JJ, Parrilla M, Del Cañizo C, San Miguel J, Aijón J, Pérez-Simón JA. Human bone marrow stromal cells differentiate into corneal tissue and prevent ocular graft-versus-host disease in mice. *Cell Transplant*. 2015;24(12):2423–2433. doi: 10.3727/096368915X687480.
38. Trosan P, Javorkova E, Zajicova A, Hajkova M, Hermankova B, Koss J, Krulova M, Holan V. The Supportive Role of Insulin-Like Growth Factor-I in the Differentiation of Murine Mesenchymal Stem Cells into Corneal-Like Cells. *Stem Cells Dev*. 2016;25(11):874–881. doi: 10.1089/scd.2016.0030.
39. Oh JY, Ko JH, Kim MK, Wee WR. Effects of mesenchymal stem/stromal cells on cultures of corneal epithelial progenitor cells with ethanol injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:7628–7635. doi: 10.1167/iov.14-15424.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Медицинский институт ФГБОУ ВО «Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского»
Терещенко Александр Владимирович
доктор медицинских наук, директор филиала
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
ул. С. Разина, 26, Калуга, 248023, Российская Федерация
<http://orcid.org/0000-0002-0840-2675>

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Медицинский институт ФГБОУ ВО «Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского»
Трифаненкова Ирина Георгиевна
доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
ул. С. Разина, 26, Калуга, 248023, Российская Федерация
<http://orcid.org/0000-0001-9202-5181>

Институт биофизики клетки РАН — обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Темнов Андрей Александрович
доктор медицинских наук, заведующий лабораторией химического и биотехнологического синтеза
ул. Институтская, 3, Пушкино Московская область, 142290, Российская Федерация
<http://orcid.org/0000-0002-2141-1613>

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Булатова Юлия Дмитриевна
врач офтальмолог
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0579-0366>

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Демьянченко Сергей Константинович
кандидат медицинских наук, заведующий отделением оптико-реконструктивной и рефракционной хирургии
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-0839-2876>

ABOUT THE AUTHORS

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Kaluga state university named after K.E. Tsiolkovski
Tereschenko Alexander V.
MD, director
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007, Russian Federation
Stepan Razin str., 26, Kaluga, 248023, Russian Federation
<http://orcid.org/0000-0002-0840-2675>

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Kaluga state university named after K.E. Tsiolkovski
Trifanenkova Irina G.
MD, deputy director for research
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007, Russian Federation
Stepan Razin str., 26, Kaluga, 248023, Russian Federation
<http://orcid.org/0000-0001-9202-5181>

Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences
is a separate division of the Federal Research Center «Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences»
Temnov Andrey A.
MD, head of the laboratory of chemical and biotechnological synthesis
Institutskaya str., 3, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation
<http://orcid.org/0000-0002-2141-1613>

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Bulatova Yulia D.
ophthalmologist
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0579-0366>

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Demyanchenko Sergey K.
PhD, head of the department of optical-reconstructive and refractive surgery
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-0839-2876>

Институт биофизики клетки РАН — обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Склифас Алла Николаевна
кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник
ул. Институтская, 3, Пушкино Московская область, 142290,
Российская Федерация
<http://orcid.org/0000-0003-0845-3007>

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Щацких Анна Викторовна
кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией патологической анатомии и гистологии глаза
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация
<http://orcid.org/0000-0003-4391-0112>

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза»
им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Шатаев Дмитрий Александрович
врач-офтальмолог
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
<https://orcid.org/0009-0004-5902-5074>

Калужский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза»
им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Иолчиев Рустам Байларович
врач-офтальмолог
ул. им. Святослава Федорова, 5, Калуга, 248007, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-1248-114X>

Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences
is a separate division of the Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"
Sklifas Alla N.
PhD (Biol.), leading researcher
Institutskaya str., 3, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation
<http://orcid.org/0000-0003-0845-3007>

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Shchatskikh Anna V.
PhD, head of the Laboratory of Pathological Anatomy
and Histology of the Eye
Beskudnikovskiy Blvd, 59A, Moscow, 127486,
Russian Federation
<http://orcid.org/0000-0003-4391-0112>

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Shataev Dmitry A.
ophthalmologist
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007,
Russian Federation
<https://orcid.org/0009-0004-5902-5074>

Kaluga branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution
Iolchiev Rustam B.
ophthalmologist
Svyatoslav Fedorov str., 5, Kaluga, 248007,
Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-1248-114X>