

УДК 57.017.35;577.29;57.086.833;617.7

РЕГЕНЕРАЦИЯ И ФИБРОЗ ТКАНЕЙ РОГОВИЦЫ

© 2014 г. В. Н. Сими́рский

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

119334, Москва, ул. Вавилова, д. 26

E-mail: simir@mail.ru

Поступила в редакцию 16.01.14 г.

Окончательный вариант получен 06.05.14 г.

В настоящем обзоре рассмотрены особенности регенерации тканей роговицы и ее нарушения, приводящие к развитию фиброзов. Приведены данные о наличии в тканях роговицы (эпителий, эндотелий, строма) пула стволовых (клоногенных) клеток, которые могут служить источником регенерации этих тканей при повреждении или различных заболеваниях. Рассмотрены основные стадии регенерации тканей роговицы и ее нарушения, которые приводят к опережающей пролиферации миофибробластов и секреции внеклеточного матрикса в области раны и, в конечном счете, вызывают формирование соединительнотканного рубца и помутнение роговицы. Особое внимание уделено успехам трансляционной медицины в лечении фиброзов тканей роговицы. Наиболее перспективными являются методы клеточной терапии, направленные на восстановление пула стволовых клеток тканей роговицы. Дополнительные возможности дает генная терапия, одной из основных целей которой является подавление пролиферации миофибробластов, ответственных за развитие фиброза.

Ключевые слова: регенерация тканей, фиброз, эпителиально-мезенхимный переход, миофибробласты, стволовая клетка, клеточная и генная терапия, роговица.

DOI: 10.7868/S0475145014050097

Способность тканей глаза к регенерации (заживление раны и/или восстановление утраченной части) широко распространена среди позвоночных, хотя степень регенерации тканей варьирует от вида к виду. У низших позвоночных, таких как тритоны, могут регенерировать практически все ткани глаза (Миташов, 2005; Григорян и др., 2013). У высших позвоночных регенерационные потенции тканей более ограничены и не всегда обеспечивают их полноценное восстановление (Barbosa-Sabanero et al., 2012).

Роговица — передний прозрачный бессосудистый отдел глазного яблока, который является непосредственным продолжением склеры. Роговица высших позвоночных состоит из пяти основных слоев (Лопашов, Строева, 1963; Secker et al., 2008) (рис. 1): 1) эпителий роговицы (ЭР) — многослойный слущивающийся эпителий, который формирует передний поверхностный слой роговицы; 2) боуменова мембрана — базальная мембрана, подстилающая ЭР; 3) строма роговицы — наиболее толстый слой роговицы (составляет 85–90% ее толщины). Она образована множеством параллельно расположенных пластинок из коллагеновых фибрилл, между которыми расположены кератоциты — фибробластоподобные клетки, секретирующие внеклеточный матрикс; 4) десце-

метова мембрана — задняя пограничная пластинка, расположена непосредственно под стромой. Она продуцируется клетками эндотелия роговицы и является его базальной мембраной; 5) эндотелий роговицы — однослойный плоский эпителий. Он выстилает заднюю поверхность роговицы и непосредственно контактирует с водянистой влагой передней камеры глаза.

Таким образом, роговица сформирована тремя основными типами тканей: ЭР, строма и эндотелий роговицы. ЭР активно обновляется за счет пролиферации клеток базального слоя, которые дифференцируются и смещаются в поверхностные слои, восполняя потерю клеток с поверхности роговицы (Collinson et al., 2002). Кератоциты стромы и клетки эндотелия роговицы, напротив, находятся в стадии G₁ клеточного цикла и делятся очень редко (Joyce, 2003, DelMonte et al., 2011). Повреждение роговицы стимулирует эпителиально-мезенхимный переход клеток ЭР и активирует пролиферацию кератоцитов стромы и клеток эндотелия роговицы (Kawashima et al., 2010; DelMonte et al., 2011; Joyce, 2012). Ключевым моментом в нарушении нормальной регенерации и развитии фиброза является появление миофибробластов, которые активно секретируют внеклеточный матрикс (коллаген, фибронектин и другие) и препят-

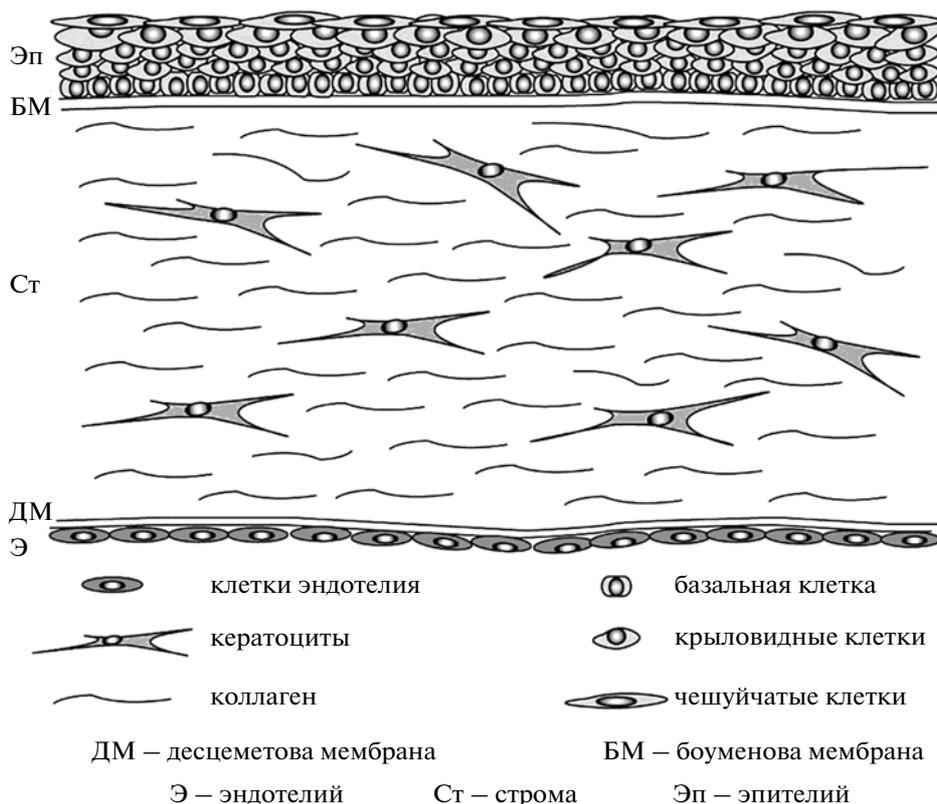


Рис. 1. Строение роговицы глаза человека (модифицировано по Secker et al., 2008).

ствуют восстановлению эпителия, формируя соединительнотканый рубец в месте повреждения ткани (Saika et al., 2008; Wilson, 2012). Такие процессы могут развиваться практически в любом органе после его повреждения (механического или вследствие воздействия неблагоприятных факторов, таких как гипоксия, ультрафиолетовое излучение, инфекции и др.), а также сопровождаются многими хроническими аутоиммунными заболеваниями (ксеродерма, ревматоидный артрит, миелофиброзы, язвенный колит). Нарушению нормальной регенерации ткани способствуют также хроническое воспаление, изменение проницаемости сосудов и неоваскуляризация (патологическое разрастание сосудов).

В настоящем обзоре рассмотрены особенности регенерации тканей роговицы высших позвоночных и ее нарушения, приводящие к развитию фиброзов. Особое внимание уделено современным подходам к лечению фиброзов с применением методов клеточной и генной терапии.

КЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ

Роговица позвоночных сформирована тремя основными типами клеток (клетки ЭР, кератоциты стромы, клетки эндотелия) и внеклеточным

матриксом. Из них только ЭР содержит активно пролиферирующие клетки, а кератоциты и клетки эндотелия в норме практически не делятся (DelMonte et al., 2011).

ЭР выполняет защитную функцию и участвует в поддержании прозрачности роговицы. Помимо активно пролиферирующих клоногенных клеток, локализованных в базальном слое ЭР, на периферии роговицы обнаружены клетки, обладающие свойствами стволовых клеток (СК). Эти клетки локализованы в зоне лимба на границе с конъюнктивой (Li et al., 2007). Они располагаются в базальном слое ЭР между гребневидными складками конъюктивы (структура, известная под названием палисады Вогта) в виде небольших групп клеток (рис. 2). В СК лимба отсутствуют цитокератины 3 и 12, инволукрин и коннексин 43, специфичные для дифференцированных клеток ЭР (Secker et al., 2008). В качестве маркеров СК лимба предложены АТФ-связывающий кассетный транспортер G2 (АТФ-binding cassette sub-family G member 2, ABCG2), p63, 1-енолаза, цитокератин 15, α 9-интегрин и другие белки (Bian et al., 2010; Mort et al., 2012). Пролиферативная активность СК низка, после асимметричного деления они дают начало переходным пролиферирующим клеткам, которые смещаются по направлению к центру роговицы, восполняя пул клоногенных базальных

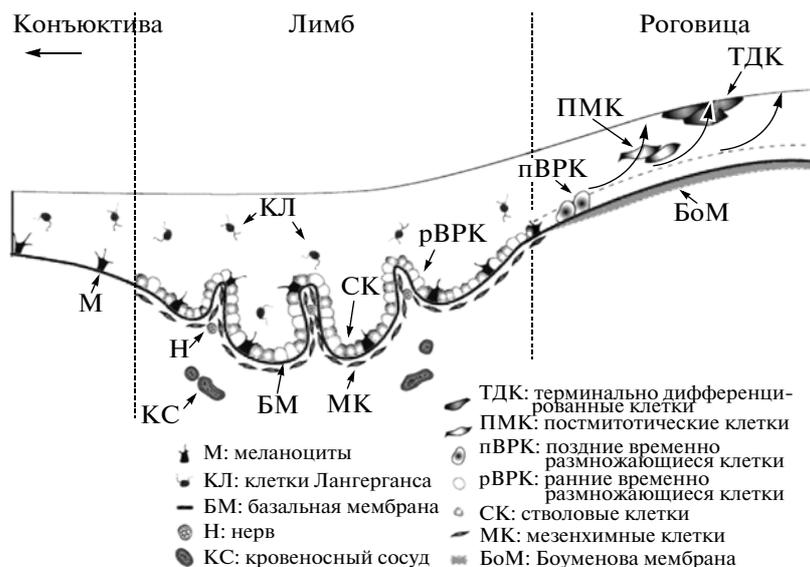


Рис. 2. Схема ниши лимбальных стволовых клеток эпителия роговицы (модифицировано по Li et al., 2007).

клеток ЭР. Палисады сильно пигментированы из-за присутствия меланоцитов (Higa et al., 2005) и инфильтрованы клетками Лангерганса (Baum, 1970) и Т-лимфоцитами (Vantrappen et al., 1985). В этой области строма роговицы богата кровеносными сосудами. Предполагают, что палисады служат нишей для СК лимба и создают условия для сохранения их в недифференцированном состоянии. Ряд данных указывает на то, что СК распределены по всей поверхности ЭР, локализуясь в его базальном слое, однако их концентрация максимальна в зоне лимба (Majo et al., 2008).

В строме роговицы локализованы кератоциты, которые секретируют коллагены типа I, III и V, кератансульфат и другие компоненты стромы (Hassell, 2010). Среди этих клеток также обнаружены клетки со свойствами СК. Они находятся в фазе G_0 клеточного цикла, но способны к продолжительной пролиферации при регенерации стромы роговицы (Du et al., 2005; West-Mays, Dwivedi, 2006; Di Girolamo, 2011).

Клетки эндотелия роговицы, которые формируют внутренний слой роговицы, поддерживают необходимую степень дегидратации стромы роговицы и обеспечивают ее прозрачность (DelMonte et al., 2011). В эндотелии роговицы СК локализованы на периферии (на границе с трабекулярной сетью) в виде небольших скоплений вокруг телец Генле-Гассана (выступы периферической части задней пограничной пластинки роговицы в переднюю камеру глаза) (He et al., 2012). Эти клетки пролиферируют очень редко, после пролиферации постепенно смещаются к центру роговицы, формируя радиальные ряды клеток на ее периферии.

Таким образом, для всех трех типов клеток роговицы обнаружены клетки со свойствами СК,

которые поддерживают клеточный гомеостаз всех слоев роговицы.

ОСНОВНЫЕ СТАДИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Регенерация большинства эпителиальных тканей протекает в несколько стадий (Wynn, 2011). Она начинается с высвобождения медиаторов воспаления (IL-1, IL-6, TNF) поврежденными эпителиальными клетками (рис. 3). Эти медиаторы запускают каскад коагуляции крови и агрегацию тромбоцитов с образованием тромбов. Агрегация и дегрануляция (высвобождение α -гранул) тромбоцитов ведут к расширению кровеносных сосудов и повышению проницаемости их стенок. На второй стадии тромбоциты секретируют фактор $TGF\beta$ и тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor, PDGF), который способствует миграции в область раны лейкоцитов (сначала нейтрофилов, а позже – макрофагов и Т-клеток). Активированные макрофаги и нейтрофилы удаляют отмершие клетки и инфицирующие микроорганизмы. На третьей стадии лейкоциты секретируют целый ряд цитокинов (IL-1 β , TNF, IL-13, $TGF\beta$), которые усиливают воспалительную реакцию и стимулируют миграцию фибробластов в область повреждения ткани и их трансформацию в миофибробласты. И наконец, на четвертой стадии миофибробласты секретируют внеклеточный матрикс и, сокращаясь, обеспечивают смыкание краев раны (Wynn, 2011). Клетки эпителия пролиферируют и мигрируют по поверхности внеклеточного матрикса, восстанавливая целостность ткани. При нарушении процесса регенерации на какой-либо из этих стадий или продолжительном

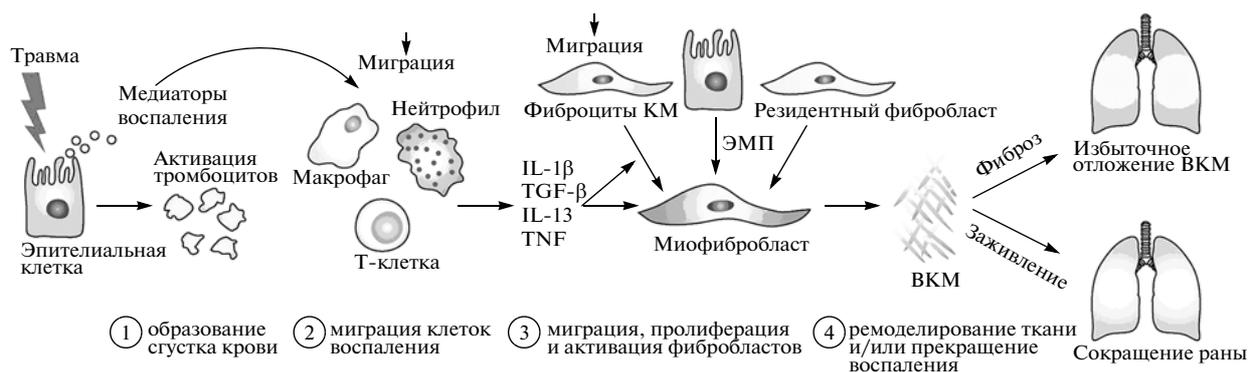


Рис. 3. Стадии регенерации и фиброза эпителия легких (модифицировано по Wynn, 2011). ВКМ – внеклеточный матрикс; КМ – костный мозг; ЭМП – эпителиально-мезенхимный переход.

повреждающем воздействии развивается хроническое воспаление и фиброз ткани.

В нормальной ткани существуют анти-воспалительные механизмы, которые вовремя удаляют клетки воспаления и их медиаторы и тем самым не позволяют воспалению перейти в хроническую фазу. В качестве анти-воспалительных агентов могут выступать газы (CO , продуцируемая гемоксигеназой и H_2S , который образуется при расщеплении цистеина цистатионин- γ -лиазой), цитоплазматические белки (аннексин A1), цитокины (IL-10), факторы роста (TGF β s, BMP7) (Ariel, Timog, 2013). TGF β s играют двойственную роль в регуляции регенерации тканей. Они способствуют эффероцитозу (фагоцитоз апоптотных клеток) и тормозят иммунный ответ макрофагов, что приводит к снижению продукции воспалительных медиаторов. Однако слишком высокий уровень TGF β s, напротив, приводит к развитию фиброза. Один из основных метаболических путей, который обеспечивает прекращение воспаления, связан с экспрессией и активацией 15-липоксигеназы 1 (15-LO-1) в моноцитах, макрофагах и мононуклеарных клетках периферической крови. В этом процессе участвуют также интерлейкины 4 и 13 (IL-4, IL-13). 15-LO-1 катализирует первую стадию синтеза лейкотриенов (производные полиненасыщенной арахидоновой кислоты), которые блокируют приобретенный иммунный ответ и воспаление, а также способствуют снижению секреции нового и деградации уже отложенного внеклеточного матрикса (Ariel, Timog, 2013).

Таким образом, как протекает заживление ткани, – происходит регенерация нормально организованной ткани или развивается фиброз, – во многом определяется балансом между медиаторами воспаления и анти-воспалительными медиаторами. Другим фактором, определяющим успех регенерации, является наличие достаточного количества СК соответствующего типа.

КЛЕТочНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФИБРОЗА ТКАНЕЙ РОГОВИЦЫ

Пролиферация клеток лимба и базальных клеток остальной части ЭР активируется при повреждении роговицы, что обеспечивает заживление небольших и неглубоких ран, если строма повреждена не сильно. Однако при обширных и глубоких поражениях роговицы (химический ожог) или нарушении функций ее клеток (синдром Стивенса-Джонса) ЭР не успевает восстановить свою целостность, что приводит к формированию непрозрачного рубца (Hassell, Birk, 2010). При заживлении глубокого разреза клетки ЭР теряют контакт с базальной мембраной и мигрируют над поверхностью раны. Часть кератоцитов стромы роговицы подвергается апоптозу под влиянием TGF β 2, который секретируют клетки ЭР. Другая часть кератоцитов начинает пролиферировать и синтезировать гладкомышечный α -актин, но секретирует только небольшие количества внеклеточного матрикса. Такие гиперклеточные миофибробласты накапливаются в области раны под ЭР. Они могут стать нормальными фибробластами и начать продуцировать нормальный внеклеточный матрикс с коллагеновыми фибриллами или становятся миофибробластами, которые секретируют непрозрачный матрикс (рис. 4).

Предполагают, что на начальном этапе заживления раны ЭР секретирует FGF2 and TGF β 2, которые индуцируют образование гиперклеточных миофибробластов. Кроме того, эти факторы содержатся в слезной жидкости, которая проникает в строму после нарушения целостности ЭР. TGF β 2 может также секретироваться макрофагами и лимфоцитами, которые мигрируют в строму роговицы через несколько часов после ее повреждения. FGF2 стимулирует высокий уровень пролиферации кератоцитов и секрецию протеогликанов, но подавляет синтез коллагена. TGF β 2 стимулирует синтез гладкомышечного α -актина и трансформацию фибробластов в миофибробла-

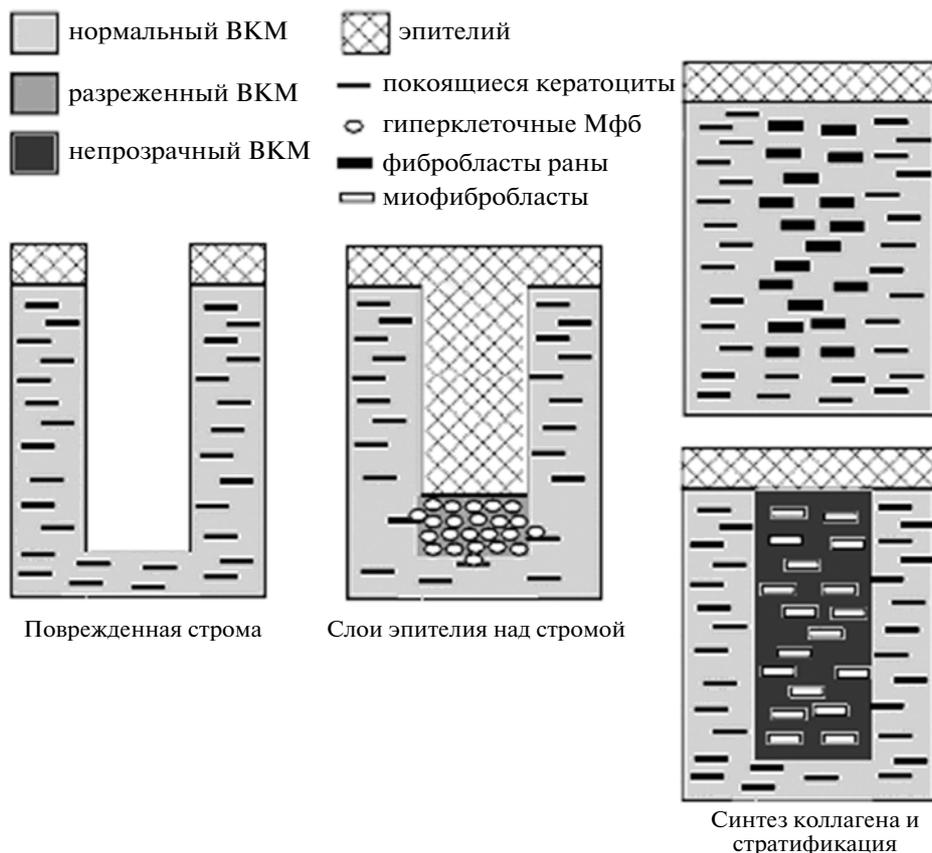


Рис. 4. Заживление проникающей раны роговицы (модифицировано по Hassell, Birk, 2010). ВКМ – внеклеточный матрикс; Мфб – миофибробласты.

сты. IGF-I, IGF-II и TGF β 2 индуцируют секрецию не только протеогликанов, но и коллагена. Под влиянием IGF-I и IGF-II гиперклеточные миофибробласты становятся нормальными фибробластами, которые восстанавливают прозрачность роговицы. Под влиянием TGF β гиперклеточные миофибробласты становятся миофибробластами, которые формируют непрозрачный матрикс (Hassell, Birk, 2010).

Основным событием при фиброзе ткани является активация миофибробластов, которые активно пролиферируют и секретируют избыточные количества внеклеточного матрикса. Источниками миофибробластов могут быть резидентные фибробласты, клетки эпителия (после эпителиально-мезенхимного перехода), фиброциты крови костномозгового происхождения, клетки эндотелия сосудов и перициты (Wynn, Ramalingam, 2012; Zeisberg, Kalluri, 2013). Эпителиально-мезенхимный переход клеток ЭР происходит под влиянием различных цитокинов (TGF β 1, BMP, Wnt) и компонентов внеклеточного матрикса (гиалуронат, фибронектин), которые активируют гены, контролирующие мезенхимную дифференцировку (Snail, Slug, Zeb). В результате клетки теряют кон-

такт с базальной мембраной, мигрируют, прекращают синтезировать эпителиальные маркеры (E-кадгерин, окклюдин) и начинают экспрессировать мезенхимные маркеры (α -гладкомышечный актин, N-кадгерин, виментин) (рис. 5).

Факторы роста семейства TGF β являются одними из ключевых медиаторов фиброза. В нормальной роговице TGF β 1 локализован внутри клеток ЭР, тогда как TGF β 2 and TGF β 3 присутствуют в неактивной форме во внеклеточном матриксе (Saika, 2006). В поврежденной роговице экспрессия TGF β 2 в клетках ЭР возрастает. Кроме того, TGF β 2 секретируется кератоцитами стромы роговицы и макрофагами, которые инфильтруют роговицу и опосредуют воспалительную реакцию (Saika, 2006; Huh et al., 2009). TGF β 2 стимулирует эпителиально-мезенхимный переход клеток ЭР, кератоцитов и/или фиброцитов костномозгового происхождения в миофибробласты.

В индукции эпителиально-мезенхимного перехода задействованы многочисленные сигнальные пути с участием TGF β (Biernacka et al., 2011): 1) **канонический сигнальный путь с участием Smads**. Тогда как активация Smad2 и Smad3 способствует заживлению раны, повышение уровня

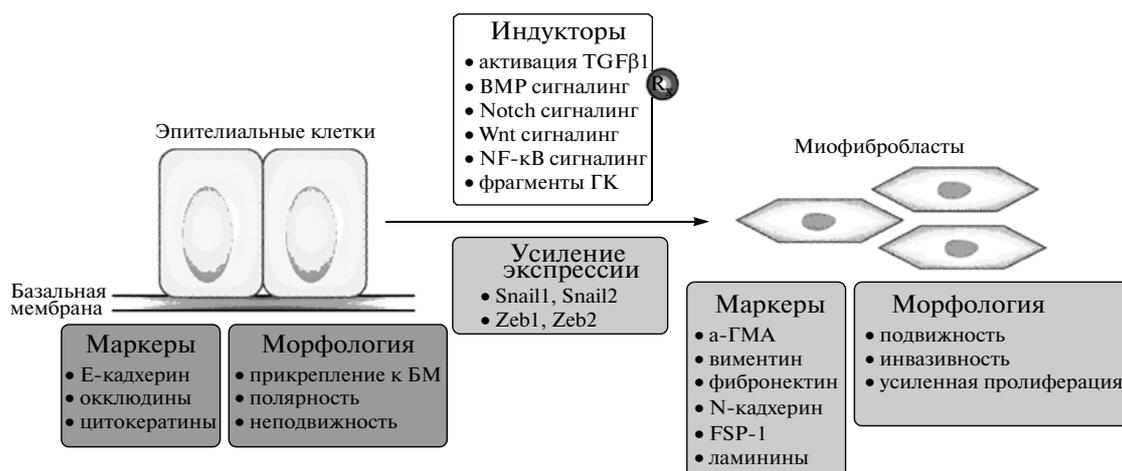


Рис. 5. Эпителиально-мезенхимный переход во время фиброза эпителиальной ткани (модифицировано по Wynn, Ramalingam, 2012). ГК — гиалуроновая кислота; R_x — сигнальные пути, которые могут быть использованы для генной терапии.

эндоглина (рецептор TGFβ типа III), которое обычно наблюдается при фиброзе, приводит к активации Smad1. Он в свою очередь индуцирует синтез соединительнотканного фактора роста CCN2 и эндотелина 1 и стимулирует фиброз (увеличение экспрессии коллагена и гладкомышечного актина α); 2) **сигнальный путь с участием Erk**. После фосфорилирования рецептора TβRI он образует комплекс с адапторными белками Shc/Grb2 и активирует Erk1/2 (киназы, активируемые внеклеточными сигналами). Последняя ингибирует PP2A (protein phosphatase 2A), которая является негативным регулятором Erk1/2 и рецептора TβRI, и стимулирует выживание и пролиферацию фибробластов и секрецию внеклеточного матрикса; 3) **сигнальный путь с участием PI3K**. Фосфоинозитид-3 киназа (PI3K) участвует в индукции фиброза через сигнальные пути Akt (protein kinase B alpha) и PAK2 (p21-activated kinase 2). Akt/mTOR (mammalian target of rapamycin) обеспечивает активацию фибробластов и выживание миофибробластов. PAK2 активирует тирозиную протеинкиназу c-Abl, стимулируя секрецию внеклеточного матрикса через активацию EGR и Smad1 и ингибирование протоонкогена Fli1.

Общая картина активации эпителиально-мезенхимного перехода еще более сложная, так как сигнальные пути TGFβ могут взаимодействовать с другими сигнальными путями, такими как Wnt и Notch (Xu et al., 2009).

Таким образом, избыточная экспрессия TGFβs приводит к образованию миофибробластов в результате эпителиально-мезенхимного перехода клеток ЭР и/или активации эндо- или экзогенных фибробластов. Миофибробласты продуцируют избыточное количество внеклеточного матрикса, что и приводит к развитию фиброза.

К разрастанию соединительной ткани по поверхности роговицы за счет клеток конъюнктивы и развитию фиброза роговицы может также привести недостаточность СК лимба. Различают первичную и вторичную недостаточность СК лимба.

Первичная недостаточность СК лимба характеризуется отсутствием внешних факторов и дисфункцией микроокружения СК лимба. Она развивается вследствие постепенной потери СК лимба при таких заболеваниях как наследственная аниридия, кератит, эритрокератодерма, нейротрофная кератопатия, хроническое воспаление лимба (лимбит), птеригиум, сухой кератоконъюнктивит (Ebrahimi et al., 2009; Mort et al., 2012). Аниридия вызвана мутацией гена Рахб и выражается в отсутствии радужки, а также сочетается с другими патологиями развития глаза. В частности, она сопровождается кератопатией, которая включает отсутствие палисадов Вогта, утолщение периферического ЭР, прорастание кровеносных сосудов к центру роговицы и развитие фиброза. При сухом кератоконъюнктивите возникает воспаление и фиброз роговицы из-за недостаточного выделения слезной жидкости.

Вторичная недостаточность СК лимба возникает вследствие разрушения СК лимба внешними факторами, такими как химический и термальный ожоги, инфекции глаза, контактные линзы, операционное вмешательство, или при тяжелых формах заболеваний (синдром Стивенса-Джонса, системные эндокринные заболевания) (Vemuganti et al., 2009).

КЛЕТочная ТЕРАПИЯ ФИБРОЗОВ РОГОВИЦЫ

Развитию фиброза и появлению рубца предшествует продолжительная активация миофиб-

робластов, избыточная продукция внеклеточного матрикса, хроническое воспаление и неоваскуляризация роговицы. Соответственно, для нормальной регенерации роговицы необходим комплекс мер, способных снизить активность миофибробластов, подавить воспалительную реакцию и блокировать прорастание сосудов в роговицу. При обширных поражениях роговицы и в случае дефицита СК в зоне лимба требуется также восстановить их популяцию, трансплантируя СК в область раны.

Восстановление эпителия роговицы. Наиболее адекватным источником для восстановления ЭР являются, очевидно, СК лимба. Для выделения обогащенной фракции СК лимба были предложены различные методы с использованием проточной цитометрии. При окрашивании Hoechst33342 из роговицы выделяли так называемые побочные клетки (side cells), которые не окрашивались этим красителем. В роговице человека эти клетки составляют 0.3–0.4% от всех клеток и экспрессируют такие маркеры СК как ABCG2, Vmi-1, nestin и Notch-1, что свидетельствует о том, что они являются покоящимися СК (Takacs et al., 2009). Использование поверхностного маркера RНАММ/НММР (рецептор гиалуронана), который отсутствует в клетках базального слоя эпителия лимба, совместно с отсутствием окрашивания Hoechst33342 позволило выделить фракцию СК лимба с повышенной эффективностью колониеобразования. С помощью центрифугирования в градиенте перколла удалось изолировать наиболее тяжелую фракцию клеток из лимба роговицы мыши (около 7% от всех клеток), которые содержали p63 (маркер СК) и обладали высокой пролиферативной активностью в культуре *in vitro* (Takacs et al., 2009).

Для клинических целей небольшие фрагменты лимба роговицы (2–3 мм²) культивировали на поверхности амниотической мембраны, интактной или лишенной эпителия. Для трансплантации использовали мембрану с выселившимися на нее клетками лимба. В других случаях использовали первичную культуру клеток лимба, а в качестве подложки использовали амниотическую мембрану, контактные линзы, температурочувствительные биополимеры, гель фибрина или переднюю капсулу хрусталика (Takacs et al., 2009). Амниотическая мембрана представляет собой внутренний слой плодной оболочки. Преимуществом амниотической мембраны является то, что она не вызывает реакции отторжения, обладает анти-бактериальными и анти-ангиогенными свойствами, содержит высокий уровень различных факторов роста (EGF, KGF, HGF, bFGF) (Grueterich et al., 2003). При частичной недостаточности СК лимба даже трансплантация одной только амниотической мембраны (без СК лимба) оказывает благоприятное воздействие на заращание раны вследствие стимуляции резидентных СК лимба и снижения воспалительной реакции.

В случае билатеральной недостаточности СК лимба используют аутологичные СК лимба доноров. На животных (кролик, мышь) продемонстрирована возможность использовать и другие тканевые источники СК, в частности, эпителий конъюнктивы (Ono et al., 2007), слизистый эпителий ротовой полости, зубную пульпу, жировую ткань (Lin et al., 2013) или волосные фолликулы (Meyer-Blazejewska et al., 2011).

Несмотря на восстановление прозрачности роговицы после трансплантации СК лимба, донорские клетки не выявлялись уже через 7–9 мес. после трансплантации (Ahmad et al., 2006). Не исключено, что трансплантаты не поставляют клетки для регенерации ЭР, а обеспечивают лишь временную поддержку и служат источником факторов, стимулирующих регенерацию ЭР за счет собственных СК, а также снижают воспалительную реакцию.

Восстановление стромы роговицы. СК стромы роговицы человека, инъекцированные в строму мышей дикого типа, сохраняли жизнеспособность в течение нескольких месяцев, секретировали внеклеточный матрикс (люмикан, кератокан и другие протеогликаны) и не вызывали иммунного ответа Т-лимфоцитов. Аналогичная инъекция восстанавливала прозрачность роговицы у мышей с нокаутом гена люмикана, отсутствие которого приводило к дезорганизации коллагеновых фибрилл и помутнению роговицы (Du et al., 2009).

Большие перспективы открывает использование индуцированных плюрипотентных СК (induced pluripotent stem cells (iPS)). В кератоциты человека трансфецировали четыре гена (Oct4/Sox2/Klf4/c-Myc), используя лентивирусный вектор (Chien et al., 2012), после чего кератоциты приобретали сходство с эмбриональными СК (по данным ДНК-микрочип анализа), активно пролиферировали и сохраняли свои свойства на протяжении 30 пассажей в культуре *in vitro*. Эти клетки использовали для заживления роговицы после механического повреждения или химического ожога роговицы у крыс. Для этого их смешивали с амфифатическим гидрогелем на основе карбоксиметилгексаноил-хитозана и инъекцировали в область повреждения роговицы. При повышении температуры с 4 до 37°C коллоидный раствор (золь) переходил в твердое состояние (гель) в течение 10 мин и фиксировал клетки в области раны. iPS с гелем ускоряли заживление роговицы вплоть до полного заживления через 14 сут. К этому времени клетки трансплантата практически полностью замещались клетками собственного ЭР. Следует отметить, что в этом случае использовали недифференцированные iPS, роль которых, очевидно, ограничивалась стимуляцией резидентных СК роговицы.

Восстановление эндотелия роговицы. Регенерация роговицы не бывает успешной, если наряду с целостностью ЭР не восстанавливается целостность эндотелия роговицы, клетки которого поддерживают необходимую для прозрачности степень гидратации стромы роговицы. В норме плотность клеток эндотелия человека достигает 3000–4000 кл/мм² при рождении и постепенно падает с возрастом. Для того, чтобы поддерживать роговицу прозрачной, плотность клеток должна быть не ниже 400–500 кл/мм², и клетки должны сохранять правильную гексагональную форму (Yu et al., 2011). При небольших повреждениях клетки эндотелия растягиваются и мигрируют, чтобы восстановить его целостность. Клетки эндотелия роговицы имеют ограниченный пролиферативный потенциал и блокированы в фазе G₁ клеточного цикла. Для того чтобы изолировать СК эндотелия и получить достаточное количество клеточного материала для трансплантации, используют суспензионные культуры. При культивировании клеток эндотелия роговицы быка и кролика в присутствии ростовых факторов (bFGF, EGF) удалось получить клеточные агрегаты (сферы), которые содержали пролиферирующие клетки с мезенхимными и нейральными маркерами (Mimura et al., 2013). Клетки периферической части эндотелия формировали в 4 раза больше сфер, чем клетки его центральной части. После инъекции суспензии таких клеток в переднюю камеру глаза кролика с буллезной кератопатией (нарушение функции эндотелия роговицы, ведущее к пропитыванию стромы жидкостью из передней камеры глаза с образованием характерных пузырьков) наблюдали прикрепление этих клеток к десцеметовой мембране и восстановление прозрачности роговицы (Mimura et al., 2005, 2013).

Для получения пласта клеток, пригодного для трансплантации, клетки эндотелия роговицы человека отделяли от десцеметовой мембраны (ферментативно или с использованием ЭДТА) и культивировали на ламинине-5 ($\alpha 3\beta 3\gamma 2$), фибронектине с коллагеном типа I, модифицированном хитозане (гидроксиэтил-хитозан совместно с желатином и хондроитин-сульфатом), амниотической мембране или изолированной десцеметовой мембране (Mimura et al., 2013). Клетки, выращенные на искусственных подложках, имели гексагональную форму и экспрессировали ZO-1 и Na⁺-K⁺-АТФазу, характерные для нормальных клеток эндотелия. Наиболее успешные результаты достигнуты в случае автоматизированной эндотелиальной кератопластики с удалением десцеметовой мембраны (Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty, DSAEK). Пласт клеток трансплантировали в переднюю камеру глаза кролика через небольшой разрез на боковой поверхности глаза так, чтобы трансплантат прикреплялся к внут-

ренней поверхности роговицы (Mimura et al., 2013).

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ ФИБРОЗОВ РОГОВИЦЫ

Генная терапия широко используется для восстановления функций тканей роговицы, что во многом связано с простотой доставки генетического материала до ткани-мишени (поверхностная аппликация) и возможностью визуального мониторинга за морфологическими изменениями в ходе терапии с помощью стандартных офтальмологических методов (например, с помощью щелевой лампы). Для генной терапии заболеваний роговицы чаще всего используют вирусные векторы (до 47% в период с 1994 по 2006 гг.) (Klausner et al., 2007), причем аденоассоциированные векторы обладают более высокой эффективностью трансфекции, чем аденовирусы, особенно для кератоцитов (Liu et al., 2008). В последнее время предложен также целый ряд эффективных невирусных векторов в виде наночастиц размером 1–100 нм на основе катионизированной желатины (Zorzi et al., 2011), хитозана (Klausner et al., 2010) и золота, конъюгированного с полиэтиленимином (Sharma et al., 2011). Гибридные носители на основе желатины в сочетании с хондроитин-сульфатом и декстран-сульфатом или на основе хитозана в сочетании с гиалуроновой кислотой обеспечивали трансфекцию трансгена в культивируемые клетки ЭР и конъюктивы человека за счет эндоцитоза, опосредованного рецептором гиалуроната CD44 (de la Fuente et al., 2008; Zorzi et al., 2011). Для увеличения специфичности трансфекции были использованы конструкции под контролем промоторов тканеспецифичных генов (цитокерин 12, специфичный для ЭР, или кератокан, специфичный для кератоцитов стромы) (Shiraishi et al., 1998; Carlson et al., 2004). Использование аналогичного подхода для эндотелия роговицы сдерживается отсутствием данных о специфичных генах этой ткани.

Основные направления, в которых используется генная терапия, связаны с улучшением заживления раны и предотвращением фиброза, восстановлением прозрачности роговицы, снижением воспалительной реакции, подавлением неоваскуляризации и замедлением отторжения трансплантатов. Эти задачи во многом взаимосвязаны и часто достигаются регуляцией активности одного общего гена (в частности, гена TGF β , который контролирует многие аспекты заживления роговицы, см. выше). Рассмотрим некоторые случаи практического применения геннотерапевтических методов для ускорения заживления раны и предотвращения фиброза роговицы в условиях *in vivo*.

ВМР7. Для заживления роговицы мыши после химического ожога на ее поверхность наносили

аденовирус, несущий ген BMP7 (Saika et al., 2005). Трансген обнаруживался в клетках эпителия конъюнктивы, кератоцитах и в регенерирующем ЭР. Экспрессия трансгена приводила к ускорению заживления ЭР и стромы, блокированию активации миофибробластов, снижению инвазии макрофагов и, в конечном счете, к уменьшению выраженности фиброза. Наблюдаемые эффекты коррелировали со снижением экспрессии TGF β 2, TGF β 3 (ключевые медиаторы фиброза) и MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) (хемоаттрактант моноцитов/макрофагов).

PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ). Трансфекция гена PPAR γ блокировала активацию миофибробластов и инвазию макрофагов, что приводило к снижению фиброза и воспалительной реакции в роговице мыши после химического ожога (Saika et al., 2007). В клетках ЭР снижалась экспрессия факторов роста TGF β 1, TGF β 2 и CTGF, а также протеиназ MMP2 и MMP9, которые участвуют в деградации базальной мембраны. Все это способствовало повышению пролиферации клеток ЭР и сохранению базальной мембраны и, в итоге, более быстрой реэпителизации роговицы.

MMP14 (matrix metalloproteinase 14). В роговице мыши с проникающим разрезом трансфекция коллагеназы MMP14 в кератоциты приводила к снижению экспрессии генов коллагена типа III и гладкомышечного α -актина, участвующих в развитии фиброза. В результате снижалась степень помутнения роговицы (Galiacy et al., 2011).

Декорин. Низкомолекулярный протеогликан декорин способен взаимодействовать со всеми изоформами TGF β и блокировать их связывание с рецепторами. Трансфекция гена декорина в кератоциты роговицы кролика приводила к снижению уровня гладкомышечного α -актина, F-актина и фибронектина, и к значительному снижению помутнения роговицы (Mohan et al., 2011). Трансген продолжал экспрессироваться в кератоцитах по крайней мере 11 мес. после трансфекции.

sT β RII (soluble TGF β type II receptor). В качестве модели фиброза использовали клеточные культуры кератоцитов роговицы человека *in vitro*, которые в присутствии TGF β 1 дифференцировались в миофибробласты. Трансфекция гена растворимого TGF β -рецептора типа II в кератоциты приводила к значительному снижению экспрессии гладкомышечного α -актина (как на уровне мРНК, так и на уровне белка) (Sharma et al., 2012).

Инъекция малой интерференционной РНК (siRNA), специфичной для T β RII, в глаз мыши с воспалением роговицы и конъюнктивы приводила к блокированию экспрессии этого рецептора, снижению воспалительной реакции и уменьшению отложения внеклеточного материала (Nakamura et al., 2004).

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Несмотря на высокие регенерационные способности тканей роговицы, нарушение регенерации и развитие фиброзов в роговице является частой причиной потери зрения. Фиброз легче предотвратить, чем лечить, так как восстановление целостности ткани обычно требует оперативного удаления рубца. В настоящем обзоре мы ограничились рассмотрением возможностей клеточной и генной терапии для лечения фиброзов роговицы. Для полноты картины следует отметить, что эффективность этих методов возрастает при их использовании в сочетании с различными фармакологическими агентами, такими как ингибиторы сигнального пути TGF β , анти-воспалительные и анти-ангиогенные агенты (Sumioka et al., 2008; Clements, Dana, 2011; Alio, Javaloy, 2013).

Основной проблемой при восстановительной терапии роговицы является получение достаточного количества аутологических СК (особенно при обширных поражениях роговицы или заболеваниях, приводящих к дефициту СК в одной из тканей роговицы). Важно, чтобы СК сохраняли способность к регенерации тканей после их выделения, культивирования *in vitro* и последующей трансплантации в роговицу. В связи с этим большое значение приобретает разработка эффективных методов выделения СК и их культивирования *in vitro* (Wilson et al., 2014). Альтернативой является использование СК из других тканей (конъюктивы, эпителий слизистой оболочки ротовой полости, мезенхимные и эмбриональные СК) (Holan, Javorkova, 2013), причем спектр тканей, пригодных для этих целей, существенно расширился с открытием методов получения индуцированных СК (Hayashi et al., 2012). Для кератопластики используют пласты клеток, выращенные *in vitro* на различных матрицах, свойства которых (состав и микроструктура) оказывают существенное влияние на пролиферацию и дифференцировочные потенции СК, что делает необходимым разработку адекватных матриц со строго контролируемой микроструктурой (Raghunathan et al., 2013; Vrana et al., 2013). Другим перспективным направлением является выявление новых биомаркеров и разработка безопасных и эффективных векторов для генной терапии фиброзов роговицы и средств их адресной доставки в клетки-мишени (Luschmann et al., 2013; Mohan et al., 2013). Сфера использования геннотерапевтических методов значительно расширилась с разработкой методов введения терапевтических генов *ex vivo* — в условиях культивирования клеток роговицы *in vitro* с последующей их трансплантацией в глаз больного (Klausner et al., 2007). Такой подход позволяет не только оптимизировать получение и контролировать свойства трансгенных клеток до их использования в клинике, но и приобретает самостоятельное значение в связи с развитием

персонализированной медицины. Успехи генной и клеточной терапии последних лет позволяют надеяться на быстрый прогресс в лечении фиброзов роговицы.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 12-04-00186-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Григорян Э.Н., Маркитантова Ю.В., Авдонин П.П. и др. Исследование регенерации у амфибий в эпоху молекулярно-генетических подходов и методов // Генетика. 2013. Т. 49. № 1. С. 55–72.
- Лопашов Г.В., Строева О.Г. Развитие глаза в свете экспериментальных исследований. М.: Наука, 1963. 206 с.
- Муташов В.И. Генетические механизмы трансдифференцировки клеток // Онтогенез. 2005. Т. 36. № 4. С. 292–299.
- Ahmad S., Figueiredo F., Lako M. Corneal epithelial stem cells: characterization, culture and transplantation // Regen. Med. 2006. V. 1. P. 29–44.
- Alio J.L., Javaloy J. Corneal inflammation following corneal photoablative refractive surgery with excimer laser // Surv. Ophthalmol. 2013. V. 58. P. 11–25.
- Ariel A., Timor O. Hanging in the balance: endogenous anti-inflammatory mechanisms in tissue repair and fibrosis // J. Pathol. 2013. V. 229. P. 250–263.
- Barbosa-Sabanero K., Hoffmann A., Judge C. et al. Lens and retina regeneration: new perspectives from model organisms // Biochem. J. 2012. V. 447. P. 321–334.
- Baum J.L. Melanocyte and Langerhans cell population of the cornea and limbus in the albino animal // Am. J. Ophthalmol. 1970. V. 69. P. 669–676.
- Bian F., Liu W., Yoon K.-C. et al. Molecular signatures and biological pathway profiles of human corneal epithelial progenitor cells // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2010. V. 42. P. 1142–1153.
- Biernacka A., Dobaczewski M., Frangogiannis N.G. TGF- β signaling in fibrosis // Growth Factors. 2011. V. 29. P. 196–202.
- Carlson E.C., Liu C.Y., Yang X. In vivo gene delivery and visualization of corneal stromal cells using an adenoviral vector and keratocyte-specific promoter // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004. V. 45. P. 2194–2200.
- Chien Y., Liao Y.-W., Liu D.-M. Corneal repair by human corneal keratocyte-reprogrammed iPSCs and amphiphatic carboxymethyl-hexanoyl chitosan hydrogel // Biomaterials. 2012. V. 33. P. 8003–8016.
- Clements J.L., Dana R. Inflammatory corneal neovascularization: etiopathogenesis // Semin. Ophthalmol. 2011. V. 26. P. 235–245.
- Collinson J.M., Morris L., Reid A.I. et al. Clonal analysis of patterns of growth, stem cell activity, and cell movement during the development and maintenance of the murine corneal epithelium // Dev. Dyn. 2002. V. 224. P. 432–440.
- de la Fuente M., Seijo B., Alonso M.J. Bioadhesive hyaluronan-chitosan nanoparticles can transport genes across the ocular mucosa and transfect ocular tissue // Gene Therapy. 2008. V. 15. P. 668–676.
- DelMonte D.W., Kim T. Anatomy and physiology of the cornea // J. Cataract Refract. Surg. 2011. V. 37. P. 588–598.
- Di Girolamo N. Stem cells of the human cornea // British Med. Bulletin. 2011. V. 100. P. 191–207.
- Du Y., Carlson E.C., Funderburgh M.L. Stem cell therapy restores transparency to defective murine corneas // Stem Cells. 2009. V. 27. P. 1635–1642.
- Du Y., Funderburgh M.L., Mann M.M. et al. Multipotent stem cells in human corneal stroma // Stem Cells. 2005. V. 23. P. 1266–1275.
- Ebrahimi M., Taghi-Abadi E., Baharvand H. Limbal stem cells in review // J. Ophthalmic Vis. Res. 2009. V. 4. P. 40–58.
- Galiacy S.D., Fournie P., Massoudi D. Matrix metalloproteinase 14 overexpression reduces corneal scarring // Gene Therapy. 2011. V. 18. P. 462–468.
- Grueterich M., Espana E.M., Tseng S.C. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells: Amniotic membrane serving as a stem cell niche // Surv. Ophthalmol. 2003. V. 48. P. 631–646.
- Hassell J.R., Birk D.E. The molecular basis of corneal transparency // Exp. Eye Res. 2010. V. 91. P. 326–335.
- Hayashi R., Ishikawa Y., Ito M. et al. Generation of corneal epithelial cells from induced pluripotent stem cells derived from human dermal fibroblast and corneal limbal epithelium // PLoS One. 2012. V. 7. Article e45435. P. 1–10.
- He Z., Campolmi N., Gain P. Revisited microanatomy of the corneal endothelial periphery: new evidence for continuous centripetal migration of endothelial cells in humans // Stem Cells. 2012. V. 30. P. 2523–2534.
- Higa K., Shimmurab S., Miyashita H. Melanocytes in the corneal limbus interact with K19-positive basal epithelial cells // Exp. Eye Res. 2005. V. 81. P. 218–223.
- Holan V., Javorkova E. Mesenchymal stem cells, nanofiber scaffolds and ocular surface reconstruction // Stem Cell Rev. 2013. V. 9. P. 609–619.
- Huh M.I., Kim Y.H., Park J.H. Distribution of TGF-beta isoforms and signaling intermediates in corneal fibrotic wound repair // J. Cell Biochem. 2009. V. 108. P. 476–488.
- Joyce N.C. Proliferative capacity of the corneal endothelium // Prog. Retin. Eye Res. 2003. V. 22. P. 359–389.
- Joyce N.C. Proliferative capacity of corneal endothelial cells // Exp. Eye Res. 2012. V. 95. P. 16–23.
- Kawashima M., Kawakita T., Higa K. Subepithelial corneal fibrosis partially due to epithelial-mesenchymal transition of ocular surface epithelium // Mol. Vis. 2010. V. 16. P. 2727–2732.
- Klausner E.A., Peer D., Chapman R.L. et al. Corneal gene therapy // J. Control. Release. 2007. V. 124. P. 107–133.
- Klausner E.A., Zhang Z., Chapman R.L. et al. Ultrapure chitosan oligomers as carriers for corneal gene transfer // Biomaterials. 2010. V. 31. P. 1814–1820.
- Li W., Hayashida Y., Chen Y.-T., Tseng S.C.G. Niche regulation of corneal epithelial stem cells at the limbus // Cell Res. 2007. V. 17. № 1. P. 26–36.
- Lin H.-F., Yung-Lai Y.-C., Tai C.-F. et al. Effects of cultured human adipose-derived stem cells transplantation on rabbit cornea regeneration after alkaline chemical burn // Kaohsiung J. Med. Sci. 2013. V. 29. P. 14–18.

- Liu J., Saghizadeh M., Tuli S.S. et al. Different tropism of adenoviruses and adeno-associated viruses to corneal cells: implications for corneal gene therapy // *Mol. Vis.* 2008. V. 14. P. 2087–2096.
- Luschmann C., Herrmann W., Strauss O. Ocular delivery systems for poorly soluble drugs: an *in vivo* evaluation // *Int. J. Pharm.* 2013. V. 455. № 1–2. P. 331–337.
- Majo F., Rochat A., Nicolas M. Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface // *Nature*. 2008. V. 456. P. 250–254.
- Meyer-Blazejewska E.A., Call M.K., Yamanaka O. et al. From hair to cornea: toward the therapeutic use of hair follicle-derived stem cells in the treatment of limbal stem cell deficiency // *Stem Cells*. 2011. V. 29. P. 57–66.
- Mimura T., Yamagami S., Amano S. Corneal endothelial regeneration and tissue engineering // *Prog. Retin. Eye Res.* 2013. V. 35. P. 1–17.
- Mimura T., Yokoo S., Araie M. et al. Treatment of rabbit bullous keratopathy with precursors derived from cultured human corneal endothelium // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005. V. 46. P. 3637–3644.
- Mohan R.R., Rodier J.T., Sharma A. Corneal gene therapy: basic science and translational perspective // *Ocul. Surf.* 2013. V. 11. P. 150–164.
- Mohan R.R., Tovey J.C.K., Sharma A. et al. Targeted decorin gene therapy delivered with adeno-associated virus effectively retards corneal neovascularization *in vivo* // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 10. e26432.
- Mort R.L., Douvaras P., Morley S.D. et al. Stem cells and corneal epithelial maintenance: insights from the mouse and other animal models // *Results Probl. Cell Differ.* 2012. V. 55. P. 357–394.
- Nakamura H., Siddiqui S.S., Shen X. et al. RNA interference targeting transforming growth factor- β type II receptor suppresses ocular inflammation and fibrosis // *Mol. Vis.* 2004. V. 10. P. 703–711.
- Ono K., Yokoo S., Mimura T. et al. Autologous transplantation of conjunctival epithelial cells cultured on amniotic membrane in a rabbit model // *Mol. Vis.* 2007. V. 13. P. 1138–1143.
- Raghunathan V., McKee C., Cheung W. Influence of extracellular matrix proteins and substratum topography on corneal epithelial cell alignment and migration // *Tissue Eng. Part A*. 2013. V. 19. P. 1713–1722.
- Saika S. TGF β pathobiology in the eye // *Lab. Invest.* 2006. V. 86. P. 106–115.
- Saika S., Ikeda K., Yamanaka O. et al. Therapeutic effects of adenoviral gene transfer of bone morphogenic protein-7 on a corneal alkali injury model in mice // *Lab. Invest.* 2005. V. 85. P. 474–486.
- Saika S., Yamanaka O., Okada Y. et al. Effect of overexpression of PPAR γ on the healing process of corneal alkali burn in mice // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007. V. 293. C75–C86.
- Saika S., Yamanaka O., Sumioka T. et al. Fibrotic disorders in the eye: Targets of gene therapy // *Prog. Retin. Eye Res.* 2008. V. 27. P. 177–196.
- Secker G.A., Daniels J.T. Limbal epithelial stem cells of the cornea // In: *StemBook* (Internet). Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute, 2008. P. 1–18.
- Sharma A., Rodier J.T., Tandon A. et al. Attenuation of corneal myofibroblast development through nanoparticle-mediated soluble transforming growth factor- β type II receptor (sTGF β RII) gene transfer // *Mol. Vis.* 2012. V. 18. P. 2598–2607.
- Sharma A., Tandon A., Tovey J.C.K. et al. Polyethyleneimine-conjugated gold nanoparticles: Gene transfer potential and low toxicity in the cornea // *Nanomedicine*. 2011. V. 7. P. 505–513.
- Shiraishi A., Converse R.L., Liu C.Y. Identification of the cornea-specific keratin 12 promoter by *in vivo* particle-mediated gene transfer // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1998. V. 39. P. 2554–2561.
- Sumioka T., Ikeda K., Okada Y. et al. Inhibitory effect of blocking TGF- β /Smad signal on injury-induced fibrosis of corneal endothelium // *Mol. Vis.* 2008. V. 14. P. 2272–2281.
- Takacs L., Toth E., Berta A., Vereb G. Stem cells of the adult cornea: From cytometric markers to therapeutic applications // *Cytometry A*. 2009. V. 75. P. 54–66.
- Vantrappen L., Geboes K., Missotten L. et al. Lymphocytes and Langerhans cells in the normal cornea // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1985. V. 26. P. 220–225.
- Vemuganti G.K., Fatima A., Madhira S.L. et al. Limbal stem cells: Application in ocular biomedicine // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2009. V. 275. P. 133–181.
- Vrana N.E., Lavalle P., Dokmeci M.R. Engineering functional epithelium for regenerative medicine and *in vitro* organ models: a review // *Tissue Eng. Part B*. 2013. V. 19. P. 529–543.
- West-Mays J.A., Dwivedi D.J. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2006. V. 38. P. 1625–1631.
- Wilson S.E. Corneal myofibroblast biology and pathobiology: Generation, persistence, and transparency // *Exp. Eye Res.* 2012. V. 99. P. 78–88.
- Wilson S.L., Yang Y., El Haj A.J. Corneal stromal cell plasticity: *in vitro* regulation of cell phenotype through cell-cell interactions in a three-dimensional model // *Tissue Eng. Part A*. 2014. V. 20. P. 225–238.
- Wynn T.A. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis // *J. Exp. Med.* 2011. V. 208. P. 1339–1350.
- Wynn T.A., Ramalingam T.R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease // *Nat. Med.* 2012. V. 18. P. 1028–1040.
- Xu J., Lamouille S., Derynck R. TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition // *Cell Res.* 2009. V. 19. P. 156–172.
- Yu W.Y., Sheridan C., Grierson I. et al. Progenitors for the corneal endothelium and trabecular meshwork: A potential source for personalized stem cell therapy in corneal endothelial diseases and glaucoma // *J. Biomed. Biotechnol.* 2011. Article ID 412743. P. 1–13.
- Zeisberg M., Kalluri R. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. V. 304. P. C216–C225.
- Zorzi G.K., Parraga J.E., Seijo B., Sanchez A. Hybrid nanoparticle design based on cationized gelatin and the polyanions dextran sulfate and chondroitin sulfate for ocular gene therapy // *Macromol. Biosci.* 2011. V. 11. P. 905–913.

Regeneration and Fibrosis of Corneal Tissues

V. N. Simirskii

*Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia
e-mail: simir@mail.ru*

Received January 16, 2014; in final form, May 6, 2014

Abstract—In this review, the features of the regeneration of corneal tissue and its disorders leading to the development of fibrosis are considered. The data on the presence of stem (clonogenic) cell pool in the corneal tissues (epithelium, endothelium, stroma) are given; these cells can serve as a source for regeneration of the tissues at injury or various diseases. The main steps of regeneration of corneal tissues and their disorders that lead to outstripping proliferation of myofibroblasts and secretion of extracellular matrix in the wound area and eventually cause the formation of connective tissue scar and corneal opacity are considered. Particular attention is given to the successes of translational medicine in the treatment of corneal tissue fibrosis. The methods of cell therapy aimed at the restoration of stem cell pool of corneal tissues are the most promising. Gene therapy provides more opportunities; one of its main objectives is the suppression of the myofibroblast proliferation responsible for the development of fibrosis.

Keywords: tissue regeneration, fibrosis, epithelial-mesenchymal transition, myofibroblasts, stem cell, cell and gene therapy, cornea