

І.В. Твердохліб¹
М.І. Серветник²
А.П. Дудаш²
В.Б. Фік²

¹ Дніпровський державний
медичний університет Дніпро

² Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 14.08.2024

Прийнята: 15.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.84-89>

УДК 611.018.7:611.841:616-003.93

ЛІМБАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ: МОРФОЛОГІЧНІ ТА ПАТОГЕНЕТИЧ- НІ АСПЕКТИ

Tverdokhlib I.V.  , **Servetnyk M.I.** , **Dudash A.P.** , **Fik V.B.**  **Corneal limbal stem cells: morphological and pathogenetic aspects.**

Dnipro State Medical University, Dnipro; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. The creation of the concept of corneal limbal stem cells (SCs) significantly advanced ophthalmological researchers in understanding the processes of proliferation, migration and regeneration of the corneal epithelium, which made a direct contribution to improving the treatment of a wide range of diseases of the eye surface. However, from the point of view of the application of limbal SCs in clinical practice, many questions remain unresolved, the most important of which are the long-term survival of limbal allografts and their rejection, as well as the improvement of immunosuppressive treatment regimens. Limbal SCs are functionally defined as cells that are capable of self-renewal and organization of a permanent population of identical daughter cells with the same unlimited potential for proliferation and formation of any body tissue. Since the discovery that epithelial SCs are located in the cornea, the treatment of ophthalmic diseases has reached a high level: new promising diagnostic and therapeutic methods have appeared. The potential clinical benefit of SCs lies in the ability to replace damaged cells with healthy ones that are generated from them or arise as a result of their paracrine effect and are able to maintain the tissue microenvironment or recruit endogenous factors from circulating progenitor cells to repair damaged eye cells. Stem cells are widely used in clinical practice: their effectiveness has been proven in the treatment of a wide range of diseases. The problem of finding new effective pathogenetically based methods, the use of which will allow to reduce the number of complications, shorten the time of providing medical care and achieve positive results, remains relevant.

Key words: eye, cornea, stem cells, corneal limbal insufficiency.

Citation:

Tverdokhlib IV, Servetnyk MI, Dudash AP, Fik VB. [Corneal limbal stem cells: morphological and pathogenetic aspects]. Morphologia. 2023;17(4):84-9. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.84-89>

 **Tverdokhlib I.V.** 0000-0002-8672-3773;  **Servetnyk M.I.** 0000-0001-5774-7744;

 **Dudash A.P.** 0000-0002-7934-8995;  **Fik V.B.** 0000-0002-2284-4488

 ivt@dmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Створення концепції лімбальних стовбурових клітин (СК) значно просунуло дослідників-офтальмологів у розумінні процесів проліферації, міграції та регенерації епітелію рогівки, що зробило безпосередній внесок у вдосконалення лікування широкого спектру захворювань поверхні ока. Однак, з точки зору застосування лімбальних СК у клінічній практиці, багато питань залишаються невирішеними, найбільш важливи-

ми з яких є довгострокове виживання лімбальних алотрансплантатів та їх відторгнення, а також покращення імуносупресивних схем лікування [1-3].

Відомо, що поверхня ока складається з двох різних типів епітеліальних клітин: кон'юнктиви та рогівки. Анатомічно вони безперервні, складаються з двох популяцій клітин, що відрізняються одна від одної, а СК рогівки локалізовані в

лімбі [4]. Мікрооточення лімба відіграє важливу роль у підтримці властивостей СК, а також є бар'єром для епітеліальних клітин кон'юнктиви, запобігаючи їх міграції поверхнею рогівки. Пошкодження лімбу призводить до різного за ступенем дефіциту лімбальних СК, що має характерні клінічні ознаки, у тому числі вrostання епітелію кон'юнктиви у рогівку. Показано, що регенерація рогівки після вrostання епітелію кон'юнктиви з використанням СК може здійснюватися двома способами: застосуванням лімбального ауто- або алотрансплантату та індукцією та регенерацією тканин ока із застосуванням дорослих СК. Відновлення патологічно змінених тканин ока залежить від популяції СК лімба, які мають здатність до самооновлення та диференціювання. У даний час доведено, що СК ока дорослої людини у фізіологічних умовах здатні до самоіндукування у певному напрямку, у тому числі тканини ока, і, зокрема, рогівки [5]. Рогівка у людини займає приблизно 1/6 частину зовнішньої оболонки ока. Вона має вигляд опукло-увігнутої лінзи, а місце переходу її в склеру (лімб) – напівпрозорого кільця шириною до 1 мм. До складу рогівки входять вода, колаген мезенхімного походження, мукополісахариди, білки (альбумін, глобулін), ліпіди, вітаміни. Прозорість рогівки залежить від правильності розташування структурних елементів та однакових показників їх заломлення, а також вмісту у ній води (у нормі до 75%; збільшення води понад 86% веде до помутніння рогівки) [6, 7].

Рогівка складається з 5 шарів. Поверхневий шар (плоский багатшаровий епітелій) добре і швидко регенерує при пошкодженнях, виконує захисну функцію та є регулятором вмісту води в рогівці. Боуменова оболонка (пухко пов'язана з епітелієм) безструктурна, гомогенна, має низький рівень обміну і не здатна до регенерації. Це і є причиною того, що при ушкодженнях залишаються помутніння. Строма – найтовстіший, прозорий середній шар, що складається з тонких сполучнотканинних пластинок, що містять фібрили колагену, фіброласти та лімфоїдні елементи, які виконують захисну функцію. Десцеметова оболонка – це тонкий безклітинний шар, який є базальною мембраною ендотелію рогівки. Ендотелій складається з одношарового плоского або кубічного епітелію і захищає строму від безпосереднього впливу водянистої вологи, має виражену бар'єрну функцію, не регенерує [6, 8].

До моменту народження дитини приблизно 20% епітеліальних та стромальних клітин, а також 12% клітин ендотелію беруть активну участь у клітинному циклі. До моменту відкриття повік кількість клітин, які активно проліферують у стромі та ендотелії, зменшується майже до нуля. Такий низький рівень проліферації підтримується протягом усього життя. У той самий час помітно зростає рівень проліферації у клітинах епіте-

лію рогівки, що становить 75% [9].

Підтвердження про розташування епітеліальних СК рогівки в лімбальній ділянці було засноване на клінічних та лабораторних дослідженнях, які явно ідентифікують базальний шар лімбального епітелію як джерело СК. За допомогою імуногістохімічних методів дослідження було підтверджено, що базальний шар епітелію лімбу має найнижчий рівень диференціювання серед усіх епітеліальних клітин рогівки. Це доводиться тим, що в епітелії кон'юнктиви рогівки міститься невелика кількість кератинів, які є групою нерозчинних у воді цитоскелетних білків і утворюють пов'язані з десмосомами (10 нм) проміжні філаменти практично у всіх видах епітелію. Доведено високу здатність до проліферації базального шару лімбу у клітинних культурах [10]. У разі часткового або повного видалення епітелію лімбу у рогівці з'являються аномалії її поверхні, які характеризуються вrostанням кон'юнктиви епітелію, васкуляризацією та хронічним запаленням, що, у свою чергу, може бути пояснено дефіцитом лімбальних СК [9, 11].

Ще одним доказом наявності СК у зоні лімбу є відносно високе переважання різних новоутворень у цій ділянці рогівки [12, 13]. Результати математичного аналізу кінетики підтримки епітеліальної маси рогівки підтвердили експериментальні дослідження про те, що епітелій рогівки може підтримуватися шляхом доцентрової міграції епітеліальних клітин лімба без впливу на сусідню кон'юнктиву [14]. Наведені вище джерела вказують на те, що в області базального шару (шириною 1,5-2 мм) та епітелію лімбу знаходяться СК епітелію рогівки. Це невелика субпопуляція клітин, що становить 0,5...10% загальної кількості клітин, розташованих у палісадах Вогта [15].

На даний момент немає чіткого розуміння того, що саме підтримує властивості СК: самі СК та/або їх мікрооточення. Не дивлячись на те, що в базальному шарі епітелію рогівки знаходиться невелика кількість СК, вони мають високу здатність до самооновлення і великий проліферативний потенціал. У здорових тканинах рогівки СК мають тенденцію залишатися в спокійному стані, проте при стимуляції чи патології вони діляться і піддаються диференціюванню з утворенням транзиторних клітин (ТАС – transit amplifying cells). Найбільш ймовірно, що базальний шар епітелію лімба складається не тільки зі СК, але і ТАС, які розташовані в ньому і всередині периферичного епітелію рогівки [16].

Поряд із стовбуровими клітинами ТАС відіграють важливу роль у регенерації тканин ока при загоєнні. При цьому в лімбі та периферичній рогівці ТАС виявляють деякі характерні для СК властивості: тривале існування та повільний клітинний цикл з низькою мітотичною активністю та диференціюванням у нормальному стані. У

центральному відділі рогівки ТАС, навпаки, відносяться до короткоживучих клітин зі швидким циклом клітинного поділу, що дає можливість ефективно нарощувати клітинну масу шляхом обмеження кількості мітозів. У критичному стані ТАС можуть зупиняти мітоз і диференціюватися в супрабазальні постмітотичні клітини рогівки, тобто в диференційовані клітини [17, 18].

Точний механізм поділу ТАС, хоч і залишається невідомим, але в багатьох дослідженнях було показано, що контроль за кінетикою мітозу в лімбальних СК відрізняється від такого для клітин рогівки. Наявність ТАС у лімбі та рогівці забезпечує, з одного боку, посилення кожного поділу СК та зведення до мінімуму необхідності їх проліферації із збереженням енергетичних ресурсів. З іншого боку, їхня присутність мінімізує можливість появи помилок у реплікації ДНК у популяції СК, а також сприяє появі нових клітин, що знаходяться набагато ближче до остаточно диференційованого функціонального клітинного компартменту, наприклад епітелію, який покриває центральну рогівку [17].

Доведено [18], що на міграцію лімбальних СК впливають багато регуляторних факторів, як під час розвитку плода, так і в період життя людини та тварини. Було показано, що у клітинних мембранах базального шару лімбального епітелію знаходяться рецептори до різних факторів росту. Показано, що у щурів, наприклад, недиференційовані клітини в базальному шарі лімбального епітелію містять вищі рівні рецепторів фактора росту (GFRs - Growth factor receptors), ніж у супрабазальному. Незважаючи на те, що висока експресія GFRs у клітинах базального шару лімбального епітелію також підтверджувалася і на людській рогівці, немає чіткої різниці в інтенсивності забарвлення між базальними клітинами лімбу, рогівки та кон'юнктиви. Було припущено, що високий рівень вмісту GFR на клітинах базального шару лімба може інгібувати їх диференціювання за допомогою сигналювання клітині про підтримку їх проліферативного потенціалу [17-19].

Одним із захисних механізмів патологічного диференціювання клітин є відносний стан спокою СК під час сталого зростання. У цей період СК припиняють активно синтезувати ДНК, посилюють зростання популяції клітин, що ампліфікують (ТА-клітин). Більш диференційованим потомством СК є ТА-клітини: вони мають менш тривалий життєвий цикл, мають менший проліферативний потенціал, позбавлені здатності регулювати процеси заповнення та заміщення втрачених клітин. Якщо СК рогівки знаходяться тільки в базальному шарі лімба, то ТА-клітини розташовуються по всій поверхні рогівки, її базальному шарі. Клітини базального шару лімба діляться шляхом асиметричного мітозу та доцентрового руху СК. Щойно СК мігрують з лімба-

льного шару до центру рогівки, вони починають диференціюватися в зрілі епітеліальні клітини. Тривалий клітинний цикл і низька мітотична активність є одними з головних характеристик СК, хоча за певних умов вони можуть мати високу мітотичну активність [18].

У даний час доведено, що важливу роль у підтримці гомеостазу в організмі людини та тварин відіграє процес збалансованого росту та загибелі клітин, тобто процес диференціювання всіх клітин в організмі пов'язаний з апоптозом. Існують два основні шляхи апоптозу клітини: мітохондріальний та через рецептори. До рецепторів апоптозу належить сімейство білків Аро-1 або Fas (CD95) та фактор некрозу пухлини (ФНП). ФНП є високоцитотоксичною речовиною та використовується для протиракової терапії. Представники цього сімейства (не всі) мають домен клітинної смерті (death domain – DD) – домен білок-білкової взаємодії, що зв'язується з білком-адаптором, таким як FADD (associated death domain). Активація рецепторів апоптозу лігандами (наприклад, CD-95L та ФНП) призводить до активації каспази-8, запускаючи каскад реакцій, що призводять клітину у стан апоптозу. Мітохондріальний шлях виконує центральну роль при апоптозі, при цьому спостерігається збільшення проникності мітохондріальної мембрани. Баланс між про- та антиапоптозними членами сімейства Bcl-2 (apoptosis regulator Bcl-2) регулює вихід проапоптозних речовин з мітохондрій, що призводить до запуску апоптозу, таких як AIF, ендонуклеаза G, Smac/DIABLO та цитохром C. Витік цитохрому призводить до утворення апоптосом у цитоплазмі, яка активує каспазу-9 та запускає клітинну смерть [14, 17, 20].

Лімбальні СК тісно пов'язані з судинами та, на відміну від центральної зони, постійно контактують з факторами виживання. У роботі [11] зазначено, що фібробласти лімбу (на відміну від інших клітин рогівки) містять особливий білок та виділяють антиапоптозні фактори. Таким чином, антиапоптозні фактори виконують регуляторну роль та визначають терміни життєдіяльності лімбальних СК, їхнє функціонування також сприяє диференціюванню в ТА-клітини.

Також важливу роль у підтримці життєдіяльності лімбальних СК відіграють цитокіни. Була запропонована гіпотеза відновлення клітин рогівки: втрата поверхневих епітеліальних клітин дорівнює сумі проліферації базальних клітин, проліферації та центрипетальної міграції лімбальних клітин. За даними цих авторів, пошкоджений епітелій рогівки відновлюється за рахунок епітеліальних клітин, які походять з лімбальних СК і мігрують на її поверхню. Можливою причиною лімбальної недостатності рогівки (ЛНР) може бути дефіцит стромального мікрооточення, що підтримує СК, внаслідок якого розвиваються такі захворювання: аніридія; вродже-

на еритрокатодермія; кератит, пов'язаний із різними ендокринними порушеннями; нейротрофічна кератопатія та хронічний лімбіт. Крім того, причиною розвитку ЛНР може бути і зовнішній вплив (хімічні або термічні ураження, синдром Стівенса-Джонсона, очний рубцевий пемфігоїд, численні операції або кріотерапія, носіння контактних лінз та тяжкі мікробні інфекції), що руйнує лімбальні СК [11, 21, 22].

Лімбальна недостатність рогівки може бути як дифузною (загальною), так і секторальною (частковою). В останньому випадку вrostання епітелію кон'юнктиви рогівки обмежується ділянками її недостатності. У деяких пацієнтів дефіцит лімбальних клітин може бути безсимптомним. З часом може прогресувати до явного дефіциту внаслідок виснаження популяції СК. За клінічними проявами ЛНР характеризується такими ознаками: кон'юнктивальний паннус, хронічне запалення, помутніння рогівки різного ступеня вираженості, неоваскуляризація, недостатньо хороша взаємодія епітеліальних клітин, що, у свою чергу, проявляється нерівністю поверхні рогівки, деструкцією її базальної мембрани [6]. Деякі захворювання (аніридію, кератит) пов'язані з ендокринними порушеннями. Нейротрофічна кератопатія та птеригіум/псевдоптеригіум є легкою формою дефіциту лімбальних СК. У цьому відбувається поступова втрата чи слабка генерація СК. Такі пацієнти можуть відчувати серйозну світлобоязнь, біль, зниження зору і навіть сліпоту. Захворювання, що призводять до розвитку ЛНР, пов'язані з: ушкодженням популяції лімбальних СК, спричиненою хімічними та термічними факторами; поєднаними хірургічними втручаннями, кріотерапією лімбу; синдромом Стівенса-Джонсона, токсичним епідермальним некролізом; кератопатією, індукованою носінням контактних лінз; гострими мікробними інфекціями із залученням лімбу; радіацією. Також етіологічним фактором є дисфункція строми лімбу, пов'язана із застосуванням антиметаболітів (наприклад, мітоміцин-С); аніридією (спадкове захворювання); кератитами, асоційованими з поліендокринною недостатністю (спадкове захворювання); нейротрофічними кератопатіями; хронічною бульозною кератопатією; хронічним запаленням зони лімба, периферичним запаленням лімба або виразкою; птеригіум, псевдоптеригіум; ідіопатичною кератопатією [7]. Загальним патогенетичним фактором даних захворювань є виснаження популяції лімбальних СК, завдяки чому відбувається вrostання епітелію кон'юнктиви або кон'юнктивальних елементів на поверхні рогівки [8]. Такі пацієнти є поганими кандидатами для звичайних трансплантацій рогівки з кількох причин. По-перше, за допомогою цієї процедури пересаджують лише ПКП рогівки, а не лімбальні СК. По-друге, запалення та існуюча раніше васкуляризація рогівки збільшують ризик

відторгнення алотрансплантату. По-третє, у таких випадках, як правило, розвивається рецидив вrostання епітелію кон'юнктиви через дисфункцію лімбальних СК [8, 13, 23].

Імунні порушення можуть бути як причиною, так і наслідком розвитку ЛНР. При цьому спостерігається стимуляція місцевої та/або системної продукції та порушення балансу про- та протизапальних цитокінів, дефекти в системі інтерферонів (дефіцит або, навпаки, гіперпродукція ІФН- α та/або ІФН- γ), ослаблення Т-клітинного імунітету, особливо його хелперної ланки, дисімуноглобулінемія (у сироватці та слізній рідині), підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів і т. і. Успіхи у вивченні цитокінів дозволили розшифрувати основні ланки патогенезу ЛНР, що тривалий час залишалися незрозумілими. Головними медіаторами запалення, на думку більшості дослідників, є ФНП- α та ІЛ-1 β . Під час дослідів на тваринах встановлено, що внутрішньоочні ін'єкції цих цитокінів індукують запальний процес, а подальше введення антитіл до ФНП або антагоніста рецептора ІЛ-1 β супресує запалення. Експериментально встановлений також ефект ІЛ-8, цитокіну, що має виражену хемотаксичну активність для лейкоцитів і за допомогою цього бере участь у розвитку запалення. Інші цитокіни (ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-4, ІФН- α , ІФН- γ) виявляють неоднозначний, дозозалежний ефект, у різних умовах посилюючи або, навпаки, супресуючи внутрішньоочне запалення. Показано, наприклад, що первинне введення ІЛ-6 у склоподібне тіло індукує розвиток увеїтів у щурів, проте при повторних ін'єкціях, навпаки, формується резистентність до захворювання. Поясненням цього можуть бути особливі властивості ІЛ-6: будучи типовим цитокіном запалення, він обмежує вироблення інших прозапальних цитокінів, що визначає його двоїсту патогенетичну роль [12, 24].

Характерно, що у хворих на інсулінзалежний цукровий діабет порушення цитокінового статусу, як системні (очевидно, пов'язані з розвитком основного захворювання), так і місцеві (в очі), спостерігаються задовго до появи клінічних ознак ЛНР. Особливу увагу привертає ФНП- α . Практично на всіх стадіях захворювання, починаючи з субклінічної та аж до термінальної, спостерігається гіперсекреція цього цитокіну в слізній та внутрішньоочній рідині. Для хворих з діабетичною ретинопатією характерно також виражене посилення системної продукції ФНП- α , що в літературі розглядають як один із ключових факторів загального патогенезу інсулінзалежного діабету. Поліпотентність функцій ФНП- α , зокрема, такі важливі в плані цієї проблеми ефекти, як активація ендотелію судин і стимуляція ангіогенезу, а також Т- і В-лімфоцитів і аутоімунних реакцій і цитотоксична дія безпосередньо на клітини-мішені дають підстави вважати стійке під-

вищення його продукції несприятливим чинником для розвитку та прогресування ЛНР [24].

Збільшення виразності зрушень у цитокиновому статусі асоціюється з переходом до термінальної, проліферативної стадії діабетичної ретинопатії. Визначено ключові, прогностичні маркери цього періоду: у слізній рідині – значне підвищення рівня ІФН- γ (до 25 000–30 000 пкг/мл при нормі 8 000–10 000 пкг/мл), з гіперпродукцією якого пов'язане небажане посилення імунопатології; у сироватці – надлишок одного з основних регуляторів проліферативних процесів – ТФР- α 1 (40 000–60 000 пкг/мл за норми 20 000–30 000 пкг/мл). Істотний внесок у розвиток та прогресування ЛНР роблять аутоімунні реакції, індуковані антигеном сітківки. Лімбальна недостатність рогівки асоціюється з накопиченням антитіл у внутрішньоочних рідинах і в сироватці або їх зникненні, обумовленому формуванням імунних комплексів малих розмірів [8, 25].

Підсумок

Таким чином, дослідження лімбальних СК у галузі офтальмології за останні два десятиліття набагато просунулися вперед. Лімбальні СК функціонально визначаються як клітини, які здатні до самооновлення та організації постійної популяції ідентичних дочірніх клітин з тим самим необмеженим потенціалом до проліферації та

утворення будь-якої тканини організму. З моменту відкриття того, що епітеліальні СК розташовані в рогівці, лікування офтальмологічних захворювань вийшло на високий рівень: з'явилися нові перспективні діагностичні та терапевтичні методи. Потенційна клінічна користь СК полягає в можливості замінювати пошкоджені клітини здоровими, які утворилися з них або з'явилися внаслідок їхнього паракринного ефекту і здатні підтримувати мікросередовище тканини або залучати ендogenous фактори циркулюючих клітин-попередників, щоб відновлювати пошкоджені клітини ока. Ствобурові клітини широко застосовуються у клінічній практиці: їхня ефективність доведена при лікуванні досить широкого спектру захворювань.

Перспективи подальших досліджень

Зберігається актуальною проблема пошуку нових ефективних патогенетично обґрунтованих методів, застосування яких дозволить зменшити кількість ускладнень, скоротити час надання медичної допомоги та досягти позитивних результатів.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Attico E, Galaverni G, Pellegrini G. Clinical Studies of COMET for Total LSCD: A Review of the Methods and Molecular Markers for Follow-Up Characterizations. *Curr. Ophthalmol. Rep.* 2021;9:25–37. doi: 10.1007/s40135-020-00263-9.
2. Chiavelli C, Attico E, Sceberras V, Fantacci M, Melonari M, Pellegrini G. Encyclopedia of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. Volume 2. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 2019. 578 p.
3. Adamo D, Attico E, Pellegrini G. Education for the translation of Advanced Therapy Medicinal Products. *Front. Med.* 2023;10:658. doi: 10.3389/fmed.2023.1125892.
4. Osei-Bempong C, Figueiredo FC, Lako M. The limbal epithelium of the eye – a review of limbal stem cell biology, disease and treatment. *BioEssays.* 2013;35:211–9.
5. Lagali N, Wowra B, Fries FN, Latta L, Moslemani K, Utheim TP, Wylegala E, Seitz B, Käsman-Kellner B. Early phenotypic features of aniridia-associated keratopathy and association with PAX6 coding mutations. *Ocul. Surf.* 2020;18:130–40. doi: 10.1016/j.jtos.2019.11.002.
6. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol.* 2000;44(5):415–25.
7. Maurizi E, Adamo D, Magrelli FM, Galaverni G, Attico E, Merra A, Maffezzoni MBR, Losi L, Genna VG, Sceberras V. Regenerative Medicine of Epithelia: Lessons from the Past and Future Goals. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021;9:652214. doi: 10.3389/fbioe.2021.652214.
8. Latta L, Figueiredo FC, Ashery-Padan R, Collinson JM, Daniels J, Ferrari S, Szentmáry N, Solá S, Shalom-Feuerstein R, Lako M. Pathophysiology of aniridia-associated keratopathy: Developmental aspects and unanswered questions. *Ocul. Surf.* 2021;22:245–66. doi: 10.1016/j.jtos.2021.09.001.
9. Enzo E, Cattaneo C, Consiglio F, Polito MP, Bondanza S, De Luca M. Clonal analysis of human clonogenic keratinocytes. *Methods Cell Biol.* 2022;170:101–16. doi: 10.1016/bs.mcb.2022.02.009.
10. Ahmad S. Concise review: limbal stem cell deficiency, dysfunction, and distress. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(2):110–15.
11. Nicholas MP, Mysore N. Corneal neovascularization. *Exp. Eye Res.* 2021;202:108363. doi: 10.1016/j.exer.2020.108363.
12. Yu W, Sun Z, Sweat Y, Sweat M, Venugopalan SR, Eliason S, Cao H, Paine M.L, Amendt BA. Pitx2-Sox2-Lef-1 interactions specify progeni-

tor oral/dental epithelial cell signaling centers. *Development*. 2020;147:186023. doi: 10.1242/dev.186023.

13. Deng SX, Borderie V, Chan CC, Dana R, Figueiredo FC, Gomes JAP, Pellegrini G, Shimmura S, Kruse FE. Global Consensus on Definition, Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea*. 2019;38:364–75. doi: 10.1097/ICO.0000000000001820.

14. Attico E, Sceberas V, Pellegrini G. Approaches for Effective Clinical Application of Stem Cell Transplantation. *Curr. Transplant. Rep.* 2018;5:244–50. doi: 10.1007/s40472-018-0202-0.

15. Li Y, Inoue T, Takamatsu F. Differences between niche cells and limbal stromal cells in maintenance of corneal limbal stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:1453–62.

16. Park SH, Kim KW, Chun YS, Kim YC. Human mesenchymal stem cells differentiate into keratocyte-like cells in keratocyte-conditioned medium. *Exp Eye Res*. 2012;101:16–26.

17. Kalabusheva EP, Shtompel AS, Rippe AL, Ulianov SV, Razin SV, Vorotelyak EA. A Kaleidoscope of Keratin Gene Expression and the Mosaic of Its Regulatory Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:5603. doi: 10.3390/ijms24065603.

18. Lovatt M, Yam GHF, Peh GS, Colman A, Dunn NR, Mehta JS. Directed differentiation of

periocular mesenchyme from human embryonic stem cells. *Differentiation*. 2018;99:62–9. doi: 10.1016/j.diff.2017.11.003.

19. Tibbetts MD, Samuel MA, Chang TS. Stem cell therapy for retinal disease. *Curr Opin Ophthalmol*. 2012;23:226–34.

20. Linda E, Frank AE, Giuseppe G. Cell death independent of caspases: a review. *Clin Cancer Res*. 2005;11:3155–62.

21. Agrawal R, Iyer J, Connolly J. Cytokines and Biologics in non-infectious autoimmune uveitis: Bench to Bedside. *Indian J Ophthalmol*. 2014;62(1):74–81.

22. Horai R, Caspi RR. Cytokines in autoimmune uveitis. *J. Interferon Cytokine Res*. 2011;31(10):734–44.

23. Anshu A, Price M, Price F. Risk of corneal transplant rejection significantly reduced with Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. 2012;19(3):536–40.

24. Baradaran-Rafii A, Eslani M, Tseng SC. Sulfur mustard-induced ocular surface disorders. *Ocul Surf*. 2011;9:163–78.

25. Mesquida M, Leszczynska A, Llorenç V, Adán A. Interleukin-6 blockade in ocular inflammatory diseases. *Clin Exp Immunol*. 2014;176(3):301–9.

Твердохліб І.В., Серветник М.І., Дудаш А.П., Фік В.Б. Лімбальні стовбурові клітини: морфологічні та патогенетичні аспекти.

РЕФЕРАТ. Створення концепції лімбальних стовбурових клітин (СК) значно просунуло дослідників-офтальмологів у розумінні процесів проліферації, міграції та регенерації епітелію рогівки, що зробило безпосередній внесок у вдосконалення лікування широкого спектру захворювань поверхні ока. Однак, з точки зору застосування лімбальних СК у клінічній практиці, багато питань залишаються невирішеними, найбільш важливими з яких є довгострокове виживання лімбальних алотрансплантатів та їх відторгнення, а також покращення імуносупресивних схем лікування. Лімбальні СК функціонально визначаються як клітини, які здатні до самооновлення та організації постійної популяції ідентичних дочірніх клітин з тим самим необмеженим потенціалом до проліферації та утворення будь-якої тканини організму. З моменту відкриття того, що епітеліальні СК розташовані в рогівці, лікування офтальмологічних захворювань вийшло на високий рівень: з'явилися нові перспективні діагностичні та терапевтичні методи. Потенційна клінічна користь СК полягає в можливості замінювати пошкоджені клітини здоровими, які утворилися з них або з'явилися внаслідок їхнього паракринного ефекту і здатні підтримувати мікросередовище тканини або залучати ендogenous фактори циркулюючих клітин-попередників, щоб відновлювати пошкоджені клітини ока. Стовбурові клітини широко застосовуються у клінічній практиці: їхня ефективність доведена при лікуванні досить широкого спектру захворювань. Зберігається актуальною проблема пошуку нових ефективних патогенетично обґрунтованих методів, застосування яких дозволить зменшити кількість ускладнень, скоротити час надання медичної допомоги та досягти позитивних результатів.

Ключові слова: око, рогівка, стовбурові клітини, лімбальна недостатність рогівки.