

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Галина Сергеевна БАТУРИНА<sup>1,2</sup>, Любовь Евгеньевна КАТКОВА<sup>1</sup>,  
Евгений Иванович СОЛЕНОВ<sup>1,2,3</sup>, Игорь Алексеевич ИСКАКОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10*

<sup>2</sup> *Новосибирский государственный университет  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2*

<sup>3</sup> *Новосибирский государственный технический университет Минобрнауки России  
630073, г. Новосибирск, просп. Карла Маркса, 20*

<sup>4</sup> *МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России,  
Новосибирский филиал  
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10*

В обзоре рассматриваются молекулярно-клеточные механизмы нарушения функции эндотелия роговицы глаза человека, вызывающие ухудшение зрения. Помутнение роговицы является одной из наиболее распространенных причин потери зрения. Прозрачность роговицы определяется степенью гидратации стромы, структуры коллагеновых фибрилл и межфибрилярного пространства. Эндотелий осуществляет осморегуляцию матрикса роговицы, что необходимо для поддержания ее прозрачности. В обзоре рассматриваются перспективы методов коррекции функционирования эндотелия роговицы. У человека цикл клеток эндотелия роговицы остановлен в фазе *G1* пролиферативного клеточного цикла, что приводит к отсутствию митотической активности клеток. Современные исследования указывают как на возможное существование стволовых клеток, способных дифференцироваться в клетки эндотелия, так и на возможность пролиферации клеток эндотелия в особых условиях. Рассмотрены новые способы и усовершенствованные методы хранения и консервации ткани трансплантатов роговицы, паллиативные способы оперативного лечения, направленные на уменьшение гидратации поверхностных слоев роговицы. В обзоре присутствует раздел, посвященный работам по тканевой инженерии с целью создания трансплантатов эндотелия на основе культуральных технологий, разрабатываемых для получения достаточного количества трансплантационного материала и снижения зависимости от трансплантатов, получаемых от доноров посмертно.

**Ключевые слова:** эндотелий роговицы глаза, эпителиально-мезенхимальная трансформация, тканевая инженерия.

**Морфология, функция и методы коррекции функционирования эндотелия роговицы.** Роговица – важная часть оптической системы глаза, ее прозрачность определяется степенью гидратации стромы, структуры коллагеновых фибрилл и межфибрилярного пространства, содержащего гликозаминогликаны. До настоящего времени помутнение роговицы является одной из наиболее распространенных причин потери зре-

ния в мире [8, 13, 65]. Основную роль в регуляции водно-электролитного баланса стромы роговицы и, следовательно, ее толщины и прозрачности играет эндотелий. Эндотелий (задний эпителий) роговицы представлен лежащим на десцеметовой мембране монослоем гексагональных клеток и является одной из наиболее метаболических активных тканей организма, осуществляющих перенос воды и ионов для осморегуляции матрикса

*Батурина Г.С. – к.б.н., старший научный сотрудник сектора молекулярной физиологии клетки, e-mail: baturina@bionet.nsc.ru*

*Каткова Л.Е. – к.б.н., научный сотрудник сектора молекулярной физиологии клетки, e-mail: ile@bionet.nsc.ru*

*Соленин Е.И. – д.б.н., доцент, проф., главный научный сотрудник сектора молекулярной физиологии клетки, e-mail: eugsol@bionet.nsc.ru*

*Искаков И.А. – д.м.н., зав. операционным блоком, e-mail: i.iskakov@mntk.nsk.ru*

роговицы [61], обеспечение степени ее гидратации, необходимой для поддержания прозрачности [6]. Эндотелий роговицы выполняет также барьерную функцию, обеспечивая поступление питательных веществ в ее строму и вывод продуктов обмена, отличается избирательной проницаемостью для разных ингредиентов. Барьерная функция эндотелия обусловлена наличием плотных межклеточных соединений, образованных белками клаудинами и окклюдинами [17, 21].

У клеток эндотелия роговицы (СЕС) человека отсутствует митотическая активность, поскольку пролиферативный клеточный цикл остановлен в фазе *G1*. Эволюционно такая остановка деления, вероятно, возникла для сохранения эндотелия в виде монослоя, но потенциально способность к пролиферации у СЕС, по-видимому, существует и может проявляться в особых условиях [23, 59]. Также результаты современных исследований эндотелия роговицы человека указывают на возможное существование стволовых клеток на периферии клеточного монослоя [19]. Для функционирования эндотелия важна высокая плотность его клеток [11]. Минимальная плотность, достаточная для функционирования эндотелия и сохранения оптических свойств роговицы, по наблюдениям разных авторов, составляет около 500–800 на мм<sup>2</sup> [10, 23]. При рождении плотность СЕС – около 6000 на мм<sup>2</sup>, она снижается с возрастом. Поскольку митотическая активность СЕС подавлена, восстановление функции эндотелия происходит за счет подвижности, реорганизации и увеличения размеров клеток [24]. Другими словами, при снижении плотности СЕС существующие клетки «распластываются» для поддержания функциональной целостности эндотелиального монослоя. Таким образом, у человека репарация эндотелия определяется не усилением пролиферации, а реорганизацией, усилением подвижности клеток и увеличением их размеров [20].

Функция эндотелия может быть нарушена в результате болезни или травмы. Это ведет к отеку и ухудшению зрения. Традиционно наиболее эффективным способом восстановления прозрачности роговицы при недостаточности функции эндотелиальных клеток, развившейся в результате операционной травмы, воспаления или дистрофии, является трансплантация донорской роговицы. Современные радикальные операционные методики включают трансплантацию десцеметовой мембраны, пересадку внутренних слоев роговицы, сквозную кератопластику [12, 51, 60, 69]. При эндотелиальной недостаточности в центральных отделах роговицы (в начальной стадии дистрофии Фукса) предложена методика выполнения частичного десцеметорексиса. По-

видимому, удаление поврежденного эндотелия приводит к постепенному его замещению сохранными эндотелиальными клетками с периферии роговицы [2, 9, 22]. Проведение оперативных вмешательств на роговице часто осложняется отеком, что усугубляет деструктивные процессы. В связи с этим активно развиваются новые способы и совершенствуются методы хранения и консервации ткани. К паллиативным способам оперативного лечения следует отнести методику интрастромальной барьерной кератопластики, направленную на уменьшение гидратации поверхностных слоев роговицы за счет механического барьера внутри роговицы [1, 3, 28]. Консервативные способы лечения эндотелиальной недостаточности роговицы не эффективны и имеют паллиативный характер.

**Восстановление эндотелия и сопутствующие осложнения.** Восстановление эндотелия роговицы после травмы регулируется сложным комплексом ростовых факторов и ферментов. Ее репарация происходит медленно и может длиться несколько месяцев, в это время с помощью металлопротеиназ восстанавливается структура матрикса [32]. Процесс восстановления роговицы после травмы часто осложняется эндотелиально-мезенхимальной трансформацией (EnMT), родственной процессу эпителиально-мезенхимальной трансформации (EMT), наблюдаемой при восстановлении после травмы кожи. EnMT представляет собой процесс, в результате которого СЕС изменяются фенотипически и приобретают свойства фибробластов [29, 45]. Клетки при этом теряют специфические маркеры и приобретают свойства мезенхимальных клеток, развивается фиброз. Ключевыми моментами EMT являются нарушение межклеточных контактов, базально-апикальной полярности, изменение цитоскелета, повышение подвижности клеток, изменение экспрессии генов и секреции белков внеклеточного матрикса [38]. При этом клетки могут также экспрессировать белки, разрушающие внеклеточный матрикс (металлопротеазы MMP-2, -9), обрести устойчивость к старению и апоптозу [29]. EMT вовлечена в ряд патологических процессов, таких как фиброз и рак [14, 43]. Исследования клеточных механизмов регуляции и сигналинга клеток эндотелия, в том числе малигнизированных, преимущественно эпителиального происхождения, позволяют лучше понять процесс EMT, рассматриваемый в обзорах S. Lamouille [29, 54].

В СЕС в процессе EnMT происходит реорганизация цитоскелета; при участии субсемейства малых G-белков (Rho) суперсемейства Ras, в том числе белка Cdc42, нарушается полярность клеток, образуются ламеллоподии и повышает-

ся подвижность [15, 33, 41, 67]. При развитии ЕМТ наблюдают повышение активности факторов TGF- $\beta$ , FGF-2, IL-1 $\beta$  и NF- $\kappa$ B [25, 30, 31, 45]. Важным маркером ЕМТ является снижение уровня экспрессии Е-кадгерина, который представляет собой трансмембранный гликопротеин, участвующий в формировании адгезии между эпителиальными клетками. Е-кадгерин соединен с цитоскелетом посредством  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и p120-катенинов. Комплекс Е-кадгерина, катенина и актина участвует в запуске каскада сигнальных путей в клетке. Подавление экспрессии Е-кадгерина при ЕМТ приводит как к снижению межклеточной адгезии, так и к высвобождению сигнальных молекул, таких как p120-катенины. В клетке p120 регулирует активность семейств RhoГТФаз (RhoA, Rac1 и Cdc42), которым принадлежит важная роль в динамике цитоскелета. В случае деградации Е-кадгерина p120-катенин может или деградировать, или выступать как транскрипционный фактор [27, 42, 66].

Повышение экспрессии N-кадгерина связано с возрастанием клеточной адгезии мезенхимальных клеток. Показана совместная локализация Е-, N-, VE-кадгеринов в эндотелии сосудов,  $\beta$ - и p120-катенинов и p190 в СЕС человека. Из них N- и VE-кадгерин присутствуют в клеточной мембране, а Е-кадгерин – только в цитоплазме. Это указывает на особую роль N-кадгерина для формирования плотных соединений в эндотелии роговицы человека [64, 70].

В процессе EnMT может развиваться фиброз позади десцеметовой мембраны, что связано с потерей части эндотелиальных клеток и ведет к помутнению роговицы [37].

**Тканевая инженерия эндотелия для трансплантации.** Желание иметь достаточное количество материала для трансплантации и снизить зависимость от качества трансплантатов, получаемых от доноров посмертно, стимулирует исследования по использованию клеточных культур для замены эндотелия. Работы по развитию методов выделения и культивирования пригодных для трансплантации эндотелиальных клеток идут с высокой интенсивностью [7, 34, 35, 44, 49, 50].

Клетки эндотелия, по-видимому, могут обладать некоторой способностью к регенерации, которая может быть усилена в культуре [68]. Работы по созданию клеточных культур для замены эндотелия методом тканевого моделирования в значительной мере сдерживаются недостаточными исследованиями клеточных сигнальных и регуляторных механизмов, участвующих в ЕМТ [16, 56, 58]. ЕМТ является одним из значительных ограничений для работ в области тканевой инженерии, явление, рассматриваемое в обзорах

[17]. СЕС в культуре снижают интенсивность секреции белков внеклеточного матрикса [16, 45]. Изоляция при переводе в культуру (СЕС) неизбежно приводит к диссоциации плотных соединений. Свойства клеток в культуре определяются многими факторами; СЕС, посеянные с плотностью  $2 \times 10^4$  см<sup>-2</sup>, дают компактные группы клеток и демонстрируют контактное торможение в отличие от культуры, посеянной с плотностью на порядок меньше [4, 52]. Для индукции регенеративной способности СЕС создаются специализированные культуральные среды. Ранее рядом авторов удалось активировать этот процесс путем моделирования тканевых структур в культурах с помощью коллагеновых гелей [18, 68]. Культуральные среды, способствующие усилению регенерации и повышению подвижности, созданы и для эндотелия человека [53], свиньи [57], кошки [55]; также проводили исследования мезенхимальных стволовых клеток и модифицированных клеток линии 3Т3 [40, 47]. Поскольку EnMT является значительной проблемой при создании культуральных трансплантатов, то исследования механизма и поиски путей его ингибирования остаются актуальными.

Для предотвращения EnMT при переводе клеток эндотелия в культуру применяют ингибиторы путей сигналинга TGF- $\beta$  или Rho-kinase/ROCK [36, 45, 46, 48, 62]. В настоящее время эти исследования интенсивно развиваются.

Результаты современных исследований позволяют предположить, что значительную роль в остановке клеточного деления может играть находящийся в цитоплазме ангиогенин. Ангиогенин, который в настоящее время благодаря своей рибонуклеазной активности называется RNAase 5, рассматривается не только как фактор ангиогенеза, но и более широко, как фактор, повышающий жизнеспособность клетки [26, 39, 63]. Участие ангиогенина в регуляции заживления раны показано для СЕС человека в экспериментах *in vitro*, тем не менее, очевидно, необходимы эксперименты на приматах, поскольку результаты *in vivo*, полученные на роговице кролика, обладающей высокой способностью к регенерации, нельзя прямо переносить на человека.

Анализ современной литературы позволяет сделать заключение, что в области фундаментальных исследований физиологии СЕС глаза нарастает интенсивность изучения внутриклеточных сигнальных механизмов, ответственных за пролиферацию, и механизмов, вовлеченных в EnMT. В области тканевой инженерии активизируются работы по развитию технологии клеточных культур с целью создания материала для искусственных трансплантатов [5].

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2019-0041 и грантами Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-00328, № 19-08-00874 А.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Исаков И.А. Интрастромальная барьерная фемтокератопластика в паллиативном лечении далеко зашедшей стадии эндотелиально-эпителиальной дистрофии // *Соврем. технологии в офтальмологии*. 2018. 5. (25). 280–282.
2. Оганесян О.Г., Грдиканян А.А., Яковлева С.С., Гетадарян В.Р. Частичный десцеметорексис без трансплантации при эндотелиальной дистрофии роговицы // *Рос. мед. журн.* 2017. 23. (6). 302–307.
3. Филиппова Е.О., Кривошеина О.И., Запускалов И.В. Интрастромальная имплантация трековых полимерных мембран в лечении эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы // *Мед. вестн. Башкортостана*. 2015. 10. (2). 137–139.
4. Arita T., Okamura R., Kodama R., Takeuchi T., Kadoya Y., Eguchi G. Density dependent growth of corneal endothelial cells cultured *in vitro* // *Cell Differ.* 1987. 22. 61–69.
5. Brunette I., Roberts C.J., Vidal F., Hariss-Dagher M., Lachaine J., Sheardown H., Durr G.M., Proulx S., Griffith M. Alternatives to eye bank native tissue for corneal stromal replacement // *Prog. Retin. Eye Res.* 2017. 59. 97–130.
6. Bukowiecki A., Hos D., Cursiefen C., Eming S.A. Wound-healing studies in cornea and skin: parallels, differences and opportunities // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. 18. 1257–1280.
7. Chen S., Zhu Q., Sun H., Zhang Y., Tighe S., Xu L., Zhu Y. Advances in culture, expansion and mechanistic studies of corneal endothelial cells: a systematic review // *J. Biomed. Sci.* 2019. 26. (1). 2.
8. Congdon N.G., Friedman D.S., Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today // *JAMA*. 2003. 290. 2057–2060.
9. Davies E., Jurkunus U., Pineda R. Predictive factors for corneal clearance after descemetorhexis without endothelial keratoplasty // *Cornea*. 2018. 37. (2). 137–140.
10. Delmonte D.W., Kim T. Anatomy and physiology of the cornea // *J. Cataract Refract. Surg.* 2011. 37. 588–598.
11. Edelhauser H.F. The balance between corneal transparency and edema: the Proctor Lecture // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006. 47. 1754–1767.
12. Fuest M., Ang M., Htoon H.M., Tan D., Mehta J.S. Long-term visual outcomes comparing descemet stripping automated endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty // *Am. J. Ophthalmol.* 2017. 182. (10). 62–71.
13. Garg P., Krishna P.V., Stratis A.K., Gopinathan U. The value of corneal transplantation in reducing blindness // *Eye*. 2005. 19. 1106–1114.
14. Gavert N., Ben-Ze'ev A. Epithelial-mesenchymal transition and the invasive potential of tumors // *Trends. Mol. Med.* 2008. 14. 199–209.
15. Godde N.J., Galea R.C., Elsum I.A., Humbert P.O. Cell polarity in motion: redefining mammary tissue organization through EMT and cell polarity transitions // *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*. 2010. 15. 149–168.
16. Goyer B., Theriault M., Gendron S.P., Brunette I., Rochette P.J., Proulx S. Extracellular matrix and integrin expression profiles in Fuchs endothelial corneal dystrophy cells and tissue model // *Tissue Engineering*. 2018. 24 Part A (7, 8). 607–615.
17. Gumbiner B.M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis // *Cell*. 1996. 84. 345–357.
18. Hay E.D. An overview of epithelio-mesenchymal transformation // *Acta Anat. (Basel)*. 1995. 154. 8–20.
19. He Z., Campolmi N., Gain P., Ha Thi B.M., Dumollard J.M., Duband S., Peoc'h M., Piselli S., Garraud O., Thuret G. Revisited microanatomy of the corneal endothelial periphery: new evidence for continuous centripetal migration of endothelial cells in humans // *Stem Cells*. 2012. 30. 2523–2534.
20. Honda H., Ogita Y., Higuchi S., Kani K. Cell movements in a living mammalian tissue: long-term observation of individual cells in wounded corneal endothelia of cats // *J. Morphol.* 1982. 174. 25–39.
21. Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition // *J. Cell. Sci.* 2012. 125. 4417–4422.
22. Iovieno A., Neri A., Soldani A.M., Adani C., Fontana L. Descemetorhexis without graft placement for the treatment of fuchs endothelial dystrophy: Preliminary results and review of the literature // *Cornea*. 2017. 36. (6). 637–641.
23. Joyce N.C. Proliferative capacity of corneal endothelial cells // *Exp. Eye Res.* 2012. 95. 16–23.
24. Joyce N.C., Meklir B., Joyce S.J., Zieske J.D. Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996. 37. 645–655.
25. Kaimori A., Potter J., Kaimori J., Wan C., Mezey E., Koteish A. Transforming growth factor- $\beta$ 1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes *in vitro* // *J. Biol. Chem.* 2007. 282. 22089–22101.

26. Kim K.W., Park S., Oh D.H., Lee S.H., Lim K.S., Joo K., Chun Y.S., Chang S.I., Min K.M., Kim J.C. Ribonuclease 5 coordinates signals for the regulation of intraocular pressure and inhibits neural apoptosis as a novel multi-functional anti-glaucomatous strategy // *Biochim. Biophys. Acta.* 2016. 1862. (2). 145–154.
27. Kourtidis A., Ngok S.P., Anastasiadis P.Z. P120 catenin: an essential regulator of cadherin stability, adhesion-induced signaling, and cancer progression // *Prog. Mol. Biol. Trans. Sci.* 2013. 116. 409–432.
28. Kymionis G.D., Diakonis V.F., Kankariya V.P., Plaka A.D., Panagopoulou S.I., Kontadakis G.A., Grentzelos M.A., Tsilimbaris M.K., Pallikaris I.G. Femtosecond laser-assisted intracorneal biopolymer insertion for the symptomatic treatment of bullous keratopathy // *Cornea.* 2014. 33. (5). 540–543.
29. Lamouille S., Xu J., Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2014. 15. 178–196.
30. Lee J.G., Ko M.K., Kay E.P. Endothelial mesenchymal transformation mediated by IL-1beta-induced FGF-2 in corneal endothelial cells // *Exp. Eye Res.* 2012. 95. 35–39.
31. Lee J.G., Kay E.P. NF-κB is the transcription factor for FGF-2 that causes endothelial mesenchymal transformation in cornea // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. 1530–1538.
32. Lim M., Goldstein M.H., Tuli S., Schultz G.S. Growth factor, cytokine and protease interactions during corneal wound healing // *Ocul. Surf.* 2003. 1. (2). 53–65.
33. McNiven M.A. Breaking away: matrix remodeling from the leading edge // *Trends Cell. Biol.* 2013. 23. 6–21.
34. Mimura T., Yamagami S., Amano S. Corneal endothelial regeneration and tissue engineering // *Prog. Retin. Eye Res.* 2013. 35. 1–17.
35. Mimura T., Shimomura N., Usui T., Noda Y., Kaji Y., Yamagami S., Amano S., Miyata K., Araie M. Magnetic attraction of iron-endocytosed corneal endothelial cells to Descemet's membrane // *Exp. Eye Res.* 2003. 76. 745–751.
36. Miyagi H., Thomasy S.M., Russell P., Murphy C.J. The role of hepatocyte growth factor in corneal wound healing // *Exp. Eye Res.* 2018. 166. 49–55.
37. Miyamoto T., Sumioka T., Saika S. Endothelial mesenchymal transition: A therapeutic target in retrocorneal membrane // *Cornea.* 2010. 29. S52–S56.
38. Moreno-Bueno G., Portillo F., Cano A. Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer // *Oncogene.* 2008. 27. 6958–6969.
39. Moroi J., Riordan J.F. Nuclear translocation of angiogenin in proliferating endothelial cells is essential to its angiogenic activity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. 91. 1677–1681.
40. Nakahara M., Okumura N., Kay E.P., Hagiya M., Imagawa K., Hosoda Y., Kinoshita S., Koizumi N. Corneal endothelial expansion promoted by human bone marrow mesenchymal stem cell-derived conditioned medium // *PLoS. One.* 2013. 8. e69009.
41. Nelson W.J. Remodeling epithelial cell organization: transitions between front-rear and apical-basal polarity // *Cold. Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009. 1. a000513.
42. Niehrs C. The complex world of WNT receptor signaling // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2012. 13. 767–779.
43. O'Connor J.W., Gomez E.W. Biomechanics of TGFβ-induced epithelial-mesenchymal transition: implications for fibrosis and cancer // *Clin. Transl. Med.* 2014. 3. 23.
44. Okumura N., Kinoshita S., Koizumi N. Cell-based approach for treatment of corneal endothelial dysfunction // *Cornea.* 2014. 33. (Suppl. 11). S37–S41.
45. Okumura N., Kay E.P., Nakahara M., Hamuro J., Kinoshita S., Koizumi N. Inhibition of TGF-beta signaling enables human corneal endothelial cell expansion *in vitro* for use in regenerative medicine // *PLoS. One.* 2013. 8. e58000.
46. Okumura N., Nakano S., Kay E.P., Numata R., Ota A., Sowa Y., Sakai T., Ueno M., Kinoshita S., Koizumi N. Involvement of cyclin D and p27 in cell proliferation mediated by ROCK inhibitors Y-27632 and Y-39983 during corneal endothelium wound healing // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014. 55. 318–329.
47. Okumura N., Ueno M., Koizumi N., Sakamoto Y., Hirata K., Hamuro J., Kinoshita S. Enhancement on primate corneal endothelial cell survival *in vitro* by a ROCK inhibitor // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009. 50. 3680–3687.
48. Okumura N., Koizumi N., Kay E.P., Ueno M., Sakamoto Y., Nakamura S., Hamuro J., Kinoshita S. The ROCK inhibitor eye drop accelerates corneal endothelium wound healing // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013. 54. 2493–2502.
49. Okumura N., Koizumi N., Ueno M., Sakamoto Y., Takahashi H., Tsuchiya H., Hamuro J., Kinoshita S. ROCK inhibitor converts corneal endothelial cells into a phenotype capable of regenerating *in vivo* endothelial tissue // *Am. J. Pathol.* 2012. 181. 268–277.
50. Patel S.V., Bachman L.A., Hann C.R., Bahler C.K., Fautsch M.P. Human corneal endothelial cell transplantation in a human *ex vivo* model // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009. 50. 2123–2131.
51. Pavlovic I., Shajari M., Herrmann E., Schmack I., Lencova A., Kohnen T. Meta-analysis of postoperative outcome parameters comparing descemet membrane endothelial keratoplasty versus descemet stripping automated endothelial keratoplasty // *Cornea.* 2017. 36. (12). 1445–1451.
52. Peh G.S., Toh K.P., Ang H.P., Seah X.Y., George B.L., Mehta J.S. Optimization of human

- corneal endothelial cell culture: density dependency of successful cultures *in vitro* // BMC Res. Notes. 2013. 6. 176.
53. Peh G.S., Toh K.P., Wu F.Y., Tan D.T., Mehta J.S. Cultivation of human corneal endothelial cells isolated from paired donor corneas // PLoS One. 2011. 6. e28310.
54. Piera-Velazquez S., Li Z., Jimenez S.A. Role of endothelial mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders // Am. J. Pathol. 2011. 179. 1074–1080.
55. Proulx S., Audet C., Uwamaliya J., Devaux A., Allaire G., Germain L., Brunette I. Tissue engineering of feline corneal endothelium using a devitalized human cornea as carrier // Tissue Eng. Part A. 2009. 15. 1709–1718.
56. Proulx S., Bensaoula T., Nada O., Audet C., d'Arc Uwamaliya J., Devaux A., Allaire G., Germain L., Brunette I. Transplantation of a tissue engineered corneal endothelium reconstructed on a devitalized carrier in the feline model // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009. 50. 2686.
57. Proulx S., Bourget J.M., Gagnon N., Martel S., Deschambeault A., Carrier P., Giasson C.J., Auger F.A., Brunette I., Germain L. Optimization of culture conditions for porcine corneal endothelial cells // Mol. Vis. 2007. 13. 524–533.
58. Proulx S., Brunette I. Methods being developed for preparation, delivery and transplantation of a tissue-engineered corneal endothelium // Exp. Eye Res. 2012. 95. 68–75.
59. Sheerin A.N., Smith S.K., Jennert-Burston K., Brook A.J., Allen M.C., Ibrahim B., Jones D., Wallis C., Engelmann K., Rhys-Williams W., Faragher R.G., Kipling D. Characterization of cellular senescence mechanisms in human corneal endothelial cells // Aging Cell. 2012. 11. 234–240.
60. Singh A., Zarei-Ghanavati M., Avadhanam V., Liu C. Systematic review and meta-analysis of clinical outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty versus Descemet stripping endothelial keratoplasty/Descemet stripping automated endothelial keratoplasty // Cornea. 2017. 36. (11). 1437–1443.
61. Srinivas S.P. Dynamic regulation of barrier integrity of the corneal endothelium // Optom. Vis. Sci. 2010. 87. E239–E254.
62. Sumioka T., Ikeda K., Okada Y., Yamanaka O., Kitano A., Saika S. Inhibitory effect of blocking TGF- $\beta$ /S mad signal on injury-induced fibrosis of corneal endothelium // Mol. Vis. 2008. 14. 2272–2281.
63. Tsuji T., Sun Y., Kishimoto K., Olson K.A., Liu S., Hirukawa S., Hu G.F. Angiogenin translocated to the nucleus of HeLa cells and is involved in ribosomal RNA transcription and cell proliferation // Cancer Res. 2005. 65. 1352–1360.
64. Wheelock M.J., Shintani Y., Maeda M., Fukumoto Y., Johnson K.R. Cadherin switching // J. Cell. Sci. 2008. 121. 727–735.
65. Whitcher J.P., Srinivasan M., Upadhyay M.P. Corneal blindness: A global perspective // Bull. World Health Organ. 2001. 79. 214–221.
66. Yilmaz M., Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion // Cancer Metastasis Rev. 2009. 28. 15–33.
67. Yilmaz M., Christofori G. Mechanisms of motility in metastasizing cells // Mol. Cancer Res. 2010. 8. 629–642.
68. Zhu C., Joyce N.C. Proliferative response of corneal endothelial cells from young and older donors // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004. 45. 1743–1751.
69. Zhu L., Zha Y., Cai J., Zhang Y. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty versus descemet membrane endothelial keratoplasty: a meta-analysis // Int. Ophthalmol. 2018. 38. (2). 897–905.
70. Zhu Y.T., Hayashida Y., Kheirkhah A., He H., Chen S.Y., Tseng S.C. Characterization and comparison of intercellular adherent junctions expressed by human corneal endothelial cells *in vivo* and *in vitro* // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008. 49. (9). 3879–3886.

## RESTORATION OF CORNEA ENDOTHELIUM FUNCTION (REVIEW)

**Galina Sergeevna BATURINA<sup>1,2</sup>, Lubov Evgenyevna KATKOVA<sup>1</sup>,  
Evgeny Ivanovich SOLENOV<sup>1,2,3</sup>, Igor Alexeevich ISKAKOV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentyev av., 10*

<sup>2</sup> *Novosibirsk State University  
630090, Novosibirsk, Pirogova str., 2*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Technical University of Minobrnauki of Russia  
630073, Novosibirsk, Karl Marks av., 20*

<sup>4</sup> *S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution of Minzdrav of Russia, Novosibirsk Branch  
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10*

---

Review highlights modern findings on molecular mechanisms of dysfunction of human corneal endothelial cells causes decline of vision. When water enters the corneal stroma, it disorganizes the regular arrangement of the collagen fibrils, which reduces corneal transparency. Corneal endothelial cells are responsible for keeping the dehydration state of the stroma by pumping out fluid. However, this layer of cells can become deficient, for example following intra-corneal surgery or because of a pathology. Corneal transplantation is currently the only treatment in order to restore vision following endothelial dysfunctions. The authors survey methodological problems and prospects for correction of endothelial cells dysfunction. Human endothelial cells do not proliferate in vivo because these cells arrest in the *G1* phase of the cell cycle. Modern research showed that corneal endothelium cells could proliferate in special conditions. An alternative approach is to use human stem cells as an endothelial cells source. New methods and improved technique of storage and preservation of corneal grafts, palliative methods of surgical treatment aimed at reducing the hydration of the surface layers of the cornea are considered. The review includes consideration of works for endothelial tissue engineering using cell culture technologies. Endothelial keratoplasty limited by the technical difficulty of the procedure, a shortage of available grafts, and the potential for graft failure or rejection. These limitations are driving researchers to develop new approaches, such as methods of organ culture

---

**Key words:** corneal endothelium, epithelial mesenchymal transition, tissue engineering.

---

*Baturina G.S. – candidate of biological sciences, senior researcher of the sector of cell molecular physiology,  
e-mail: baturina@bionet.nsc.ru*

*Katkova L.E. – candidate of biological sciences, researcher of the sector of cell molecular physiology,  
e-mail: ile@bionet.nsc.ru*

*Solenov E.I. – doctor of biological sciences, assistant professor, professor, chief researcher of the sector  
of cell molecular physiology, e-mail: eugsol@bionet.nsc.ru*

*Iskakov I.A. – doctor of medical sciences, head of surgery block, e-mail: i.iskakov@mntk.nsk.ru*