

УДК 617.713-089.843:615.849.19

Позняк Н.И.<sup>1</sup>, Кудерко И.А.<sup>2</sup>, Беляковский П.В.<sup>1</sup>, Ковшель Н.М.<sup>2</sup>, Криштопенко Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центр микрохирургии глаза VOKA, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Медицинский центр МТЗ, Минск, Беларусь

Pazniak N.<sup>1</sup>, Kuderko I.<sup>1</sup>, Beliacovski P.<sup>1</sup>, Kovshel N.<sup>2</sup>, Krishtopenko G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center of Eye Microsurgery VOKA, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Medical Center MTZ, Minsk, Belarus

# Интрастромальная паралимбальная имплантация донорских роговичных сегментов у пациентов с прогрессирующим кератоконусом

Intrastromal implantation of donor corneal segments in patients with progressive keratoconus

---

## Резюме

В работе представлены результаты интрастромальной паралимбальной имплантации донорских роговичных сегментов у 21 пациента с прогрессирующим кератоконусом. Показано стабилизирующее влияние операций на течение кератоконуса, а также увеличение плотности эндотелиальных клеток роговицы, доли гексагональных клеток в ходе наблюдения за оперированными пациентами.

**Ключевые слова:** донорские роговичные сегменты, кератоконус, плотность клеток эндотелия.

---

## Abstract

The paper presents the results paralimbal intrastromal implantation of donor corneal segments in 21 patients with progressive keratoconus. Shows the stabilizing effect of the operations on the course of the keratoconus, as well as increasing of the corneal endothelial cells of the cornea, the percentage hexagonal cells in the course of monitoring of operated patients.

**Keywords:** donor corneal segments, keratoconus, endothelial cell density.

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Кератоконус (КК) – дегенеративное мультифакториальное заболевание, сопровождающееся истончением роговицы, нерегулярным астигматизмом, эктазией и выраженным снижением остроты зрения. Молекулярные и патологические механизмы КК до сих пор остаются неясными. Уникальная упорядоченность слоев роговицы обеспечивает ее прозрачность, и изменения в любом из них могут вызвать

нарушения зрения. Многочисленные хирургические и консервативные методы лечения КК ставят перед собой цель стабилизировать процесс и улучшить зрительные функции пациентов. В качестве одного из альтернативных методов лечения мы оценили влияние имплантации донорских роговичных сегментов в паралимбальную зону роговицы пациентов на эндотелий роговицы и течение прогрессирующего кератоконуса.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния паралимбальной трансплантации донорских роговичных сегментов на эндотелий роговицы и течение прогрессирующего кератоконуса.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находился 21 пациент с прогрессирующим кератоконусом. КК диагностирован на основании клинических данных биомикроскопии, рефрактометрии, компьютерной топографии, оптической когерентной томографии. Средний возраст пациентов составил 35 лет, женщин – 33%, мужчин – 67%. С I стадией процесса – 7 пациентов, II ст. – 12, III ст. – 2 пациента. Оперировали, как правило, по мнению пациентов «худший» глаз по своим клинико-функциональным показателям. Второй глаз (неоперированный) наблюдали в составе контрольной группы. Сроки наблюдения пациентов от 1 до 4 лет, в среднем 2 года.

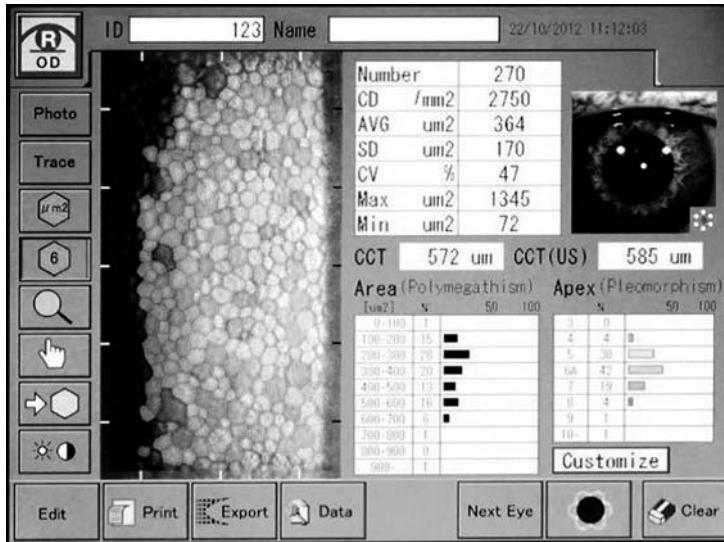
Корнеотопография выполнялась на топографе Schwind Sirius, рефрактометрия – на Tomey RC-5000, пахиметрия – на Tomey SP-3000, плотность эндотелиальных клеток и гистограмму оценивали на эндотелиальном микроскопе EM-3000 Tomey, внутриглазное давление оценивали на Huvits HNT-7000.

Операции выполнялись амбулаторно под местной анестезией раствором Дикаина 1% и субконъюнктивальным введением 2%-го раствора лидокаина. В донорской дезэпителизированной роговице в паралимбальной зоне дозированным алмазным лезвием формировался сегмент размером 5–6×1,5×0,3–0,35 мм. У пациента в паралимбальной зоне роговицы на 10–11-м и 13–14-м часах при помощи дозированного алмазного лезвия и шпателя формировались каналы глубиной 0,35 мм, шириной 1 мм, длиной 6–7 мм, в которые имплантировали донорские сегменты. Швы не накладывались. Закапывали левофлоксацин (5 мг/мл) и закладывали корнерегель 5%. Накладывалась асептическая повязка на 2–3 часа. В последующие 4–5 дней проводились инстилляциии левофлоксацина 3–4 раза в день. В послеоперационном периоде жалоб пациентов и осложнений не наблюдалось. Срок наблюдения за пациентами составил от 1 до 4 лет.

Данные анализировались при помощи компьютерной программы Statistica 7. Все измерения выражаются как среднее ±SD, а  $P < 0,05$  считалось статистически значимым.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определенный интерес представляло исследование эндотелиальных клеток роговицы у пациентов без наличия глазных заболеваний.



**Рис. 1. Гистограмма эндотелия роговицы пациентов без проявления глазных заболеваний**

Было обследовано 10 пациентов мужского и 10 пациентов женского пола. Средний возраст составил 29 лет. Характерная гистограмма эндотелия роговицы пациентов без проявления глазных заболеваний представлена на рис. 1.

В группе обследованных пациентов средняя плотность эндотелиальных клеток в центральной зоне роговицы составляла  $2771 \pm 107$  кл/мм, средний размер эндотелиальной клетки –  $360,1 \pm 15,1$  мкм, процент гексагональных клеток –  $47 \pm 4,4\%$ .

Эндотелий роговицы представляет собой тонкий монослой полигональных, преимущественно гексагональной формы, клеток, которые сообщаются через щелевые соединения, а их базальная поверхность прилегает к мембране Десцемета с помощью гемидесмосом [1, 2]. Благодаря этому эндотелий функционирует в качестве барьера, обеспечивая проницаемость растворенных во влаге передней камеры веществ и жидкости через парацеллюлярные транспортные пути [3, 4]. ЭКР содержат многочисленные митохондрии и комплекс Гольджи, что говорит об их метаболической активности [5]. Для поддержания правильной структуры и функции ЭКР реагируют на незначительные повреждения растяжением и миграцией в поврежденную область [6]. Увеличение размера клеток и изменение их формы коррелируют со снижением способности клеток к гидратации роговицы [7, 8]. Эндотелиальные клетки роговицы обладают митотической активностью в культуре *in vitro* [9], сохраняют способность к пролиферации, при этом клетки от более молодых доноров и из периферии роговицы обладают большим потенциалом. Они также отвечают на воздействие таких агентов, как фактор роста, ЭДТА и внеклеточный матрикс [10].

**Таблица 1**  
**Клинико-функциональные показатели пациентов с прогрессирующим КК до имплантации донорских роговичных сегментов**

Показатели	Опыт, n=21 (M±m)	Контроль, n=21 (M±m)
Острота зрения без коррекции (б/к)	0,148±0,125*	0,423±0,304
Острота зрения с коррекцией (с/к)	0,390±0,255*	0,728±0,281
Пахиметрия, мкм	434,528±41,27*	478,9±44,74
ВГД, мм рт. ст.	12,42±2,92	13,95±1,96
Плотность эндотелиальных клеток, кл/мм <sup>2</sup>	2494±236*	2574±255
K max, D	58,5±6,3*	50,8±6,5
AVG, D	51,5±5,8*	46,4±5,3
Средняя преломляющая сила роговицы		
Сyl, D	6,4±2,9*	2,4±2,1

Примечание: \* здесь и далее P<0,05.

Имплантация донорских роговичных сегментов выполнена на 21 глазу пациентов с прогрессирующим КК. Дооперационные клинико-функциональные показатели пациентов приведены в табл. 1.

В представленных в табл. 1 данных обращает на себя внимание, что на «худших» (по мнению пациентов) глазах по сравнению с контролем отмечается выраженное снижение зрения, изменение кератотопографических показателей и меньшая плотность эндотелиальных клеток (2494 кл/мм<sup>2</sup>), что и повлияло на выбор оперируемого глаза.

Далее мы оценили изменения клинико-функциональных показателей у пациентов с прогрессирующим КК после оперативного вмешательства. Данные представлены в табл. 2.

Из представленных в табл. 2 данных нами установлено достоверное повышение как некорригированной остроты зрения (с 0,14 до 0,21; P<0,05), так и корригированной (с 0,39 до 0,57; P<0,05). Нами не выявлено достоверных изменений центральной толщины роговицы после имплантации донорских роговичных сегментов как в опытной, так и в контрольной группах, что, на наш взгляд, говорит о стабильности процесса.

**Таблица 2**  
**Клинико-функциональные показатели пациентов с прогрессирующим КК после имплантации донорских роговичных сегментов**

Показатели	Опыт, n=21 (M±m)		Контроль, n=21 (M±m)	
	После операции	До операции	После операции	До операции
Острота зрения без коррекции (б/к)	0,214±0,178*	0,148±0,125	0,451±0,35	0,423±0,304
Острота зрения с коррекцией (с/к)	0,571±0,276*	0,390±0,255	0,733±0,313	0,728±0,281
Пахиметрия, мкм	438,19±36,25	434,528±41,27	477,57±45,08	478,9±44,74
ВГД, мм рт. ст.	12,28±2,75	12,42±2,92	13,71±2,39	13,95±1,96
Плотность эндотелиальных клеток, кл/мм <sup>2</sup>	2634,0±245*	2494,0±236	2574±255	2574±255
K max, D	57,5±6,4	58,5±6,3	50,6±6,2	50,8±6,5
AVG, D	51,5±5,5	51,5±5,8	46,4±4,9	46,4±5,3
Средняя преломляющая сила роговицы				
Сyl, D	5,5±3,0	6,4±2,9	2,7±2,2	2,4±2,1

**Таблица 3**  
**Показатели кератотопограммы пациентов опытной группы с прогрессирующим КК до и после имплантации донорских роговичных сегментов**

Показатели	До операции M±m	После операции M±m
K1, D слабый меридиан	48,6±5,8	48,9±5,5
K2, D сильный меридиан	54,9±6,1	54,5±6,0
AVG, D	51,5±5,8	51,5±5,5
Cyl, D	6,4 ±2,9	5,5±3,0*
K max, D	58,5±6,3	57,5±6,4*

Обращает на себя внимание достоверное увеличение плотности эндотелиальных клеток у пациентов опытной группы.

Измеряя ВГД, мы надеялись использовать этот показатель как косвенный признак упругости роговицы до и после оперативного лечения КК. Величина ВГД находилась в пределах 12–13 мм рт. ст. и не претерпела существенных изменений.

У пациентов контрольной группы мы не отметили изменений клинико-функциональных показателей.

Обращают на себя внимание данные изменений кератотопографических показателей у пациентов опытной группы (табл. 3).

Из представленных данных можно отметить некоторое уменьшение K max в пределах 1,0 D и цилиндрической составляющей, что и привело к повышению остроты зрения после имплантации роговичных сегментов, по-видимому, как следствие механического влияния разрезов роговицы алмазным лезвием.

Особый интерес представляют показатели эндотелиограммы у пациентов до и после имплантации донорских роговичных сегментов (табл. 4).

Примечательно не только достоверное увеличение плотности эндотелиальных клеток роговицы (ЭКР) после имплантации донорских роговичных сегментов, но и увеличение доли гексагональных клеток до 45,4%, а также уменьшение среднего размера эндотелиальной клетки до 380,6 мкм, что, по-видимому, обусловлено влиянием трансплантированных донорских сегментов роговицы.

**Таблица 4**  
**Показатели эндотелиограммы у пациентов с прогрессирующим кератоконусом до и после имплантации донорских роговичных сегментов**

Показатели	Пациенты			
	Опыт, n=21 (M±m)			Контроль, n=21 (M±m)
	До операции	После операции	До операции	
Плотность эндотелиальных клеток, кл/мм <sup>2</sup>	2494±236	2634±245*	2574±255	2571±240
Средний размер эндотелиальной клетки, мкм	420,5±23,2	380,6±31,1*	380±23	375±21
Гексагональные клетки, %	41,5±6,2	45,4±5,5*	44,6±7,7	44,3±6,9

**Таблица 5**

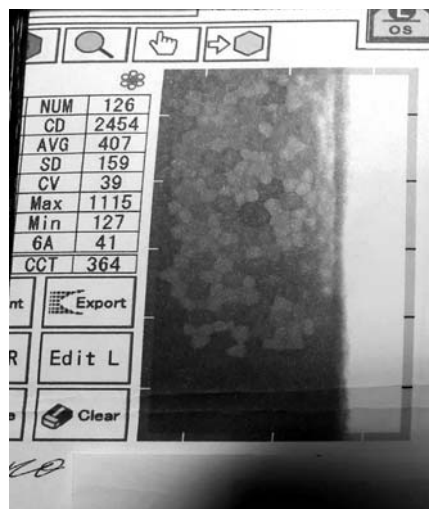
**Клинико-функциональные показатели пациента N. с прогрессирующим КК до и после имплантации донорских роговичных сегментов**

Показатели	До операции	После операции (через 2 года)
Некорригированная острота зрения	0,3	0,5
Корригированная острота зрения	0,5	0,7
Центральная толщина роговицы	350	380
Syl, D	9,5	7,0
Плотность эндотелиальных клеток, кл/мм <sup>2</sup>	2454	2666
Гексагональные клетки, %	41	50
Средний размер эндотелиальной клетки, мкм	407	376

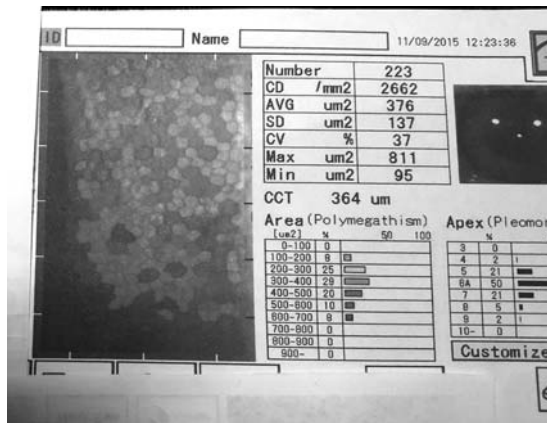
В качестве клинического примера приводим сведения о пациенте N., 32 года, пол – мужской, длительность заболевания – 7 лет, длительность наблюдения – 2 года (табл. 5, рис. 2, 3).

Из представленных данных (табл. 5, рис. 2 и 3) обращают на себя внимание не только показатели повышения зрения, но и увеличение плотности эндотелия роговицы, доли гексагональных клеток и уменьшение среднего размера эндотелиальных клеток роговицы, что можно рассматривать как свидетельство стабилизации кератоконуса.

Литературные данные о характере изменения ЭКР у пациентов с кератоконусом достаточно противоречивы. Авторы [11, 12] не только не нашли признаков различия между плотностью ЭКР и стадиями кератоконуса, но и не отметили изменения гексагональных клеток роговицы. Наряду с этими данными в литературе приводятся сведения как об увеличении плотности эндотелиальных клеток [13], так и их снижении [14, 15] у пациентов с КК. Возможно, это связано с различиями в измерениях,



**Рис. 2. Эндотелиограмма у пациента N. с прогрессирующим кератоконусом до имплантации донорских роговичных сегментов**



**Рис. 3. Эндотелиограмма у пациента N. с прогрессирующим кератоконусом через 2 года после имплантации донорских роговичных сегментов**

проведенных в различных зонах роговицы. Известно, что в периферической области роговицы более высокая плотность эндотелиальных клеток, чем в центральной зоне [16–18]. Предполагается, что это различие связано с тем, что эндотелиальные стволовые клетки в основном распределены по периферии роговицы [19]. Литературные данные указывают на тот факт, что с возрастом количество ЭКР уменьшается. У новорожденных плотность эндотелиальных клеток роговицы составляет 6000 кл/мм<sup>2</sup> [20]. С течением времени плотность ЭКР ежегодно снижается примерно на 0,6% [21]. В детском возрасте (5 лет) плотность ЭКР может составлять 3746 кл/мм<sup>2</sup>, а в 42 года – 2600–2800 кл/мм<sup>2</sup> [22–25]. При этом средний размер клеток достаточно вариабелен – 330–370 мкм [23, 26], процент гексагональных клеток может составлять 46–50%. Плотность эндотелиальных клеток играет важную роль в прозрачности роговицы и должна составлять не менее 400–500 кл/мм<sup>2</sup> [3]. Установленные нами (табл. 4) повышения плотности ЭКР в ходе трансплантации роговичных сегментов и процента гексагональных клеток роговицы, несомненно, представляют существенный интерес.

Из литературных данных известно, что некоторые внутренние и внешние факторы в совокупности способствуют поддержанию эндотелия роговицы в нерепликативном состоянии. Эндотелиальные клетки роговицы не реагируют на паракринную стимуляцию, а сами межклеточные контакты ингибируют пролиферацию эндотелиальных клеток во время развития роговицы, сохраняя эндотелиальный слой в непродлиферативном состоянии с помощью p27kip1, известного ингибитора G1-фазы [27].

Несомненно, возможное объяснение причины отмеченного нами изменения плотности эндотелиальных клеток роговицы при имплантации донорских роговичных сегментов носит вероятностный характер. По-видимому, во внимание следует принять сведения о том, что небольшая популяция клеток в строме роговицы млекопитающих проявляет свойства мезенхимальных стволовых клеток, локализирующихся в

лимбальной строме вблизи стволовых клеток эпителия роговицы [28]. В роговице палисады Фогта обеспечивают нишу для лимбальных эпителиальных стволовых клеток [29]. В роговице также установлен маркер взрослых стволовых клеток ABCG2 [30]. Эти клетки составляют менее 1% от общей популяции клеток. При культивировании в бессывороточной среде они воспроизводят специфические маркеры кератоцитов, в том числе стромальный кератокан-специфический протеогликан роговицы [31].

Возможности регенераторного потенциала эндотелия роговицы представляют интерес для различных исследователей. Утверждается, что эндотелий роговицы обладает клоногенным потенциалом [32]. По мнению автора, несмотря на отсутствие маркеров стволовых клеток, образование клоногенной сферы и способность создавать монослой гексагональных клеток с функцией насоса могут указывать на то, что они являются эндотелиальными клетками – предшественниками роговицы [33]. Показано, что клетки на периферии эндотелия более активны в образовании сфер, чем клетки из центральной области роговицы [34]. Важно отметить, что при этом автор высказал мнение о том, что наличие предшественников корнеального эндотелия предполагает, что стимуляция *in vivo* прекурсоров в человеческом эндотелии факторами роста или другими неизвестными химическими медиаторами способна активировать пролиферативный потенциал этих предшественников, что может выступить в качестве новой стратегии лечения буллезной кератопатии. В эксперименте на крысах [35] авторы показали возможность реэндотелизации *in vivo*, при этом эндотелий восстанавливается после пересадки роговицы за счет локального клеточного деления, что способствует восстановлению прозрачности трансплантата. При этом авторы показали присутствие антигена Ki67+ – маркера клеточной пролиферации – в качестве доказательства возможности восстановления эндотелия роговицы *in vivo* в локальной зоне трансплантации.

Вышеприведенные сведения с большой долей вероятности позволяют предположить возможность стимуляции пролиферации клеток эндотелия роговицы *in vivo* за счет воздействия на нишу стромальных стволовых клеток роговицы. Отмеченные нами увеличение плотности ЭКР и количества гексагональных клеток, уменьшение среднего размера клеток эндотелия в ходе трансплантации донорских роговичных сегментов могут быть следствием активации обменно-репаративных процессов, высвобождения определенных факторов роста и цитокинов и их влияния на стволовые стромальные клетки роговицы. В этой связи обращает на себя внимание, что авторы, рассматривая варианты эндотелиальной кератопластики и альтернативные методы, высказали мнение о том, что существует дополнительный паракриновый эффект факторов роста, секретируемых трансплантируемым донорским трансплантатом, оказывающий свое влияние через аутокринные или паракринные пути на эндотелий роговицы [36].

Несомненно, следует продолжить дальнейшие исследования влияния паралимбальной трансплантации донорских сегментов на эндотелий роговицы для выяснения роли и места данного метода в нахождении эффективных альтернативных путей стабилизации кератоконуса.



## ■ ВЫВОДЫ

1. Паралимбальная трансплантация донорских роговичных сегментов у пациентов с прогрессирующим кератоконусом, выполненная в амбулаторных условиях, является безопасной и эффективной процедурой.
2. Паралимбальная трансплантация донорских роговичных сегментов у пациентов с прогрессирующим кератоконусом влияет на плеоморфизм эндотелия, индуцирует повышение плотности эндотелиальных клеток, доли гексагональных клеток роговицы и стабилизацию прогрессирующего кератоконуса в течение срока наблюдения не менее 2 лет.

## ■ ЛИТЕРАТУРА

1. Napier H., Kidson S. (2007) Molecular events in early development of the ciliary body. *Exp. Eye Res.*, vol. 84, no 1, pp. 615–625. doi:10.1016/j.exer.2.006.07.012.
2. Xu H., Sta Iglesia D., Kielczewski J., Valenta D., Pease M., Zack D., Quigley H.A. (2007) Characteristics of progenitor cells derived from adult ciliary body in mouse, rat, and human eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 48, no 1, pp. 1674–1682. doi:10.1167/iovs.06-134.
3. Seko Y., Azuma N., Kaneda M., Nakatani K., Miyagawa Y., Noshiro Y., Kurokawa R., Okano H., Umezawa A. (2012) Derivation of human differential photoreceptor-like cells from the iris by defined combinations of CRX, RX and NEUROD. *Plos One.*, vol. 7, pp. e35611. doi: 10.1371/journal.pone.0035611.
4. Gualdoni S., Baron M., Lakowski J., Decembrini S., Smith A., Pearson R., Ali R., Sowden J. (2010) Adult ciliary epithelial cells, previously identified as retinal stem cells with potential for retinal repair, fail to differentiate into new rod photoreceptors. *Stem Cells*, vol. 28, no 1, pp. 1048–1059. doi:10.1002/stem.423.
5. Gonzalez P., Caballero M., Liton P., Stamer W., Epstein D (2004) Expression analysis of the matrix GLA protein and VE-cadherin gene promoters in the outflow pathway. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 45, no 1, pp. 1389–1395. doi:10.1167/iovs.03-0537.
6. Du Y., Yun H., Yang E., Schuman J. (2013) Stem cells from trabecular meshwork home to TM tissue in vivo. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, no 1, pp. 1450–1459. doi:10.1167/iovs.12-11056.
7. Yu W., Sheridan C., Grierson I., Mason S., Kearns V., Lo A., Wong D. (2011) 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.*, vol. 24, no 1, pp. 112–114. doi: 412743/287765444.
8. Remington S., Meyer R (2007) Lens stem cells may reside outside the lens capsule: an hypothesis. *Theor. Biol. Med. Model.*, vol. 4, no 1, pp. 22. doi: 10.1186/1742-4682-4-22.
9. Arsenijevic Y., Taverney N., Kostic C., Tekaya M., Riva F., Zografos L., Schorderet D., Munier F. (2003) Non-neural regions of the adult human eye: a potential source of neurons? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 44, no 1, pp. 799–807. doi:10.1167/iovs.02-0267.
10. Pan F., Yao Y. (2014) Research progress on proliferative property and capacity of human corneal endothelium. *Cornea*, vol. 40, no 1, pp. 94–100.
11. El-Agha M.S., El Sayed Y.M., Harhara R.M., Essam H.M. (2014) Correlation of corneal endothelial changes with different stages of keratokonous. *Cornea*, vol. 33, no 7, pp. 707–711. doi: 10.1097/ICO000000000000134.
12. Mariam Lotfy Khaled, Inas Helwa, Michelle Drewry, Mutsa Seremwe, Amy Estes, Yutao Liu (2017) Molecular and histopathological changes associated with keratoconus. *Biomed. Res.*, vol. 13, no 1, pp. 99–101. doi:7803029
13. Lema I., Duran J. (2005) Inflammatory molecules in the tears of patients with keratokonous. *Ophthalmology*, vol. 112, no 4, pp. 654–659. doi:10.1016/j.ophtha.2004.11.050.
14. Ucakhan O., Kanpolat A., Yilmaz N., Ozkan M. (2006) *Eye and Contact Lens*, vol. 32, no 4, pp. 183–191. doi:10.1097/01.icl.0000189038.74139.4a.

15. Mocan M., Yilmaz P., Irkeç M., Orchan M. (2006) In vivo confocal microscopy for the evaluation of corneal microstructure in keratoconus. *Current Eye Research*, vol. 33, no 11, pp. 933–939. doi:10.1080/02713680802439219.
16. Erie J., Patel S., McLaren J., Nau C., Hodge D., Bourne W. (2006) Keratocyte density in keratoconus. A confocal Microscopy Study. *American Journal of Ophthalmology*, vol. 134, no 5, pp. 689–695. doi:10.1016/s0002-9394(02)01698-7.
17. Mimura T., Joyce N., (2006) Replication competence and senescence in central and peripheral human corneal endothelium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 47, no 4, pp. 1387–1396. doi: 10.1167/iovs.05-1199.
18. Bednarz J., Rodokanaki-von Schrenck A., Engelmann K. (1998) Different characteristics of endothelial cells from central and peripheral human cornea in primary culture and after subculture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal*, vol. 34, no 2, pp. 149–153. doi:10.1007/s11626-998-0097
19. Hirata-Tominaga K., Nakamura T., Okumura N. (2013) Corneal endothelial cell fate is maintained by LGR5 through the regulation of hedgehog and Wnt pathway. *Stem Cells*, vol. 31, no 7, pp. 1396–1407. doi:10.1002/stem.1390.
20. Bahn C., Glassman R., Maccallum D. (1986) Postnatal development of corneal endothelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 27, no 1, pp. 44–51.
21. Murphy C., Alvarado J., Juster R., Maglio M. (1984) Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium. A quantitative histologic study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 25, no 3, pp. 312–322.
22. Elbaz U., Mireskandari K., Tehrani N., Shen C., Khan M., Williams S., Ali A. (2017) Corneal endothelial cell density in children: normative data from birth to 5 years old. *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 173, no 1, pp. 134–138. doi:10.1016/j.ajo.2016.09.036.
23. Duman R., Tok Cevik M., Gorkem Cevik S., Perente I. (2016) Corneal endothelial cell in healthy Caucasian population. *Saudi J. Ophthalmol.*, vol. 30, no 4, pp. 236–239.
24. Padilla M., Sibaian S., Gonzales C. (2004) Corneal endothelial cell density and morphology in normal Filipino eyes. *Cornea*, vol. 23, no 2, pp. 129–135.
25. Pitchkhadze A., Bilenko N., Levy J., Belfair N., Lifshitz T. (2016) Specular microscopy normative data: Does patient age have an impact on corneal endothelium features in elderly eyes. *Cornea*, vol. 35, no 2, pp. 124–127.
26. Carlson K., Bourne W., McLaren J., Brubaker R. (2004) Variations in human corneal endothelial cell morphology and permeability to fluorescein with age. *Exp. Eye Res.*, vol. 47, no 1, pp. 27–41.
27. Joyce N. (2003) Proliferative capacity of the cornea endothelium. *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 22, no 3, pp. 359–389.
28. Nivedita P., James L. (2012) Stem Cells in the Corneal Stroma. *Stem Cells*, vol. 30, no 6, pp. 1059–1063.
29. Short A., Secker G., Munro P. (2007) Characterization of the limbal epithelial stem cells niche: Novel imaging techniques permit in vivo observation and targeted biopsy of limbal epithelial stem cells. *Stem Cells*, vol. 25, no 1, pp. 1402–1409.
30. Golebiewska A., Brons N., Bjerkgvig R., Niclou S. (2011) Critical appraisal of the side population assay in stem cell and cancer stem cell research. *Stem Cells*, vol. 8, no 2, pp. 136–147.
31. Du Y., Funderburg M., Mann M., SundarRaj N., Funderburg J. (2005) Multipotent stem cell in human corneal stroma. *Stem Cells*, vol. 23, no 9, pp. 1266–1275.
32. Yokoo S., Yamagami S., Yanagi Y., Uchida S., Mimura T., Usui T., Amano S. (2005) Human corneal endothelial cell precursors isolated by sphere-forming assay. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 46, no 5, pp. 1626–1631.
33. Amano S., Yamagami S., Mimura T., Uchida S., Yokoo S. (2006) *Cornea*, vol. 25, no 1, pp. 73–77.
34. Mimura T., Yamagami S., Yokoo S., Araie M., Amano S. (2005) Comparison of rabbit corneal endothelial cell precursors in the central and peripheral cornea. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 46, no 10, pp. 3645–3648.
35. Schwartzkopff J., Bredow L., Mahlenbrey S., Boehringer D., Reinhard T. (2010) Regeneration of corneal endothelium following complete endothelial cell loss in rat keratoplasty. *Mol. Vis.*, vol. 11, no 1, pp. 2368–2375.
36. Bogerd B., Dhuhghail S., Koppen C., Tassignon M., Zakaria N. (2017) A revive of the evidence for in vivo corneal endothelial regeneration. *Survey of Ophthalmology*, vol. 44, no 1, pp. 1036–1039. doi:10.1016/survophthal.2017.07.004.