



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Advances in endothelial keratoplasty

Birbal, R.S.

Citation

Birbal, R. S. (2020, November 17). *Advances in endothelial keratoplasty*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/138387>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/138387>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/138387> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Birbal, R.S.

Title: Advances in endothelial keratoplasty

Issue Date: 2020-11-17

Chapter 10

Nederlandse Samenvatting
(Dutch Summary)



INTRODUCTIE

In de afgelopen twee decennia heeft de introductie van de lamellaire keratoplastiek een revolutie teweeggebracht op het gebied van hoornvliestransplantaties waarbij de penetrerende keratoplastiek (PKP) grotendeels vervangen is als de chirurgische voorkeursbehandeling voor aandoeningen van het cornea-endotheel.¹ Sinds de introductie van de endotheliale keratoplastiek (EK) in 1998 is deze geëvolueerd van diepe lamellaire endotheliale keratoplastiek (DLEK) naar Descemet stripping (automated) endotheliale keratoplastiek (DS(A)EK) en vervolgens naar Descemet membraan endotheliale keratoplastiek (DMEK).² Het verschil tussen deze technieken ligt vooral in het steeds dunner worden van het getransplanteerde weefsel. Wereldwijde schaarste aan donorweefsel voor hoornvliestransplantaties heeft geleid tot een verdere verfijning van de conventionele DMEK-techniek en de ontwikkeling van Hemi- en Quarter-DMEK.^{3,4} Deze EK-technieken zouden de beschikbaarheid van endotheliale donorweefsel mogelijk kunnen vergroten.

In dit proefschrift worden de methoden van donorweefselpreparatie voor DMEK en de toepasbaarheid en klinische resultaten van DMEK en gemodificeerde DMEK-technieken in de behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel geëvalueerd.

Deel I – Preparatie van donorweefsel

Adequate kennis van de hedendaags beschikbare DMEK donorweefselpreparatietechnieken kan corneachirurgen en oogbanken helpen bij het selecteren van de juiste aanpak voor de preparatie van donorweefsel (**hoofdstuk 2**).⁵ De huidige en zich verder ontwikkelende technieken voor donorweefselpreparatie tonen een trend richting het gebruik van een 'no-touch' techniek, waarbij er geen direct fysiek contact met het donorweefsel plaatsvindt met als doel het endotheelcelverlies tot een minimum te beperken.⁶ De verschillende technieken kunnen grofweg in drie groepen worden opgedeeld: enerzijds manuele striptechnieken en anderzijds technieken die gebruik maken van lucht of vloeistof om donorweefsel te verkrijgen.⁵ Hoewel de beschikbare technieken divers zijn en verschillende sterke en zwakke punten hebben, kunnen al deze verschillende benaderingen uitstekende resultaten opleveren.⁵

Deel II - Selectieve, minimaal invasieve en potentieel weefselsparende chirurgische behandelingsmogelijkheden voor aandoeningen van het cornea-endotheel

DMEK

Sinds de klinische introductie van DMEK in 2006, heeft deze techniek aan populariteit gewonnen bij de chirurgische behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel.^{1,2} Verschillende studies hebben de resultaten van initiële studies inmiddels onderbouwd en op betrouwbare wijze aangetoond dat de eerste zes maanden na DMEK de meest kritische periode lijken te vormen, waarna de resultaten zich meestal stabiliseren.⁷⁻¹⁵ Het groeiende DMEK-cohort bij het NIIOS en de daar simultaan meegroeiende dataset hebben ons in staat gesteld om gedetailleerde subgroep analyses te verrichten. Zodoende hebben we niet alleen een algemene analyse van de klinische resultaten in de eerste zes maanden na 1000 DMEK-operaties verricht maar hebben we ook geanalyseerd hoe operatie-indicatie (Fuchs endotheeldystrofie (FED) versus bulleuze keratopathie (BK)) en, specifiek in FED-ogen, preoperatieve lensstatus (eigen lens versus kunstlens) van invloed is op de resultaten (**hoofdstuk 3**).¹⁶

Onze studie toonde een vergelijkbaar hoge gezichtsscherpte voor zowel FED- als BK-ogen, na correctie voor preoperatieve gezichtsscherpte en de leeftijd van de patiënt. Daarom is het belangrijk om te benadrukken dat de meeste BK-ogen, zonder visus-beperkende comorbiditeiten, ook een goed visueel resultaat kunnen verwachten na DMEK, zelfs in de vroege postoperatieve fase. Hoewel de preoperatieve lensstatus statistisch gezien geen invloed heeft op de klinische uitkomsten na DMEK, verdient het behoud van de heldere ooglens de voorkeur in een deel van de jongere patiënten met FED en een relatief heldere lens, omdat zij dan nog steeds voordeel zouden kunnen hebben van hun resterende accommodatievermogen en een betere algehele optische kwaliteit van het oog. Daarnaast is het 5-jaarlijkse percentage van visueel significante cataractvorming na DMEK relatief laag (16%).⁷ DMEK resulteert in uitstekende klinische resultaten met een hoge levensduur van de transplantaten tot minstens vijf jaar na de operatie (**hoofdstuk 4**). In deze reeks van de eerste 500 DMEK-ogen toonden FED-ogen een betere overlevingskans van het transplantaat vijf jaar na de operatie vergeleken met overige operatie-indicaties (93% voor FED versus 72% voor overige indicaties). Een leercurve van de techniek kan een rol hebben gespeeld bij het bereiken van hogere overlevingspercentages van de transplantaten. Dit bleek uit de hogere overlevingskans van de tweede 250 DMEK-operaties (94%) vergeleken met de eerste 250 DMEK-operaties (88%) en dit wordt verder onderbouwd door de significant lagere

overlevingskansen van ogen met een loslating van $>1/3$ van het oppervlak van het transplantaat (27%) ten opzichte van ogen met een volledig aanliggend transplantaat (95%) of een geringe loslating van $\leq 1/3$ van het oppervlak van het transplantaat (91%). Grote loslatingen van het transplantaat kwamen minder vaak voor bij de tweede 250 DMEK-operaties (2.4%) vergeleken met de eerste 250 DMEK-operaties (4.4%). Deze uitkomsten ondersteunen het gunstige effect van een vroege re-bubbling procedure.

Deze studie bevestigt dat de uitstekende visuele resultaten die bij zes maanden na DMEK bereikt worden, ten minste vijf jaar na de operatie behouden blijven. Het totale percentage postoperatieve complicaties bleef gedurende de gehele 5-jarige studieperiode relatief laag. Gedeeltelijke loslating van het transplantaat was de voornaamste vroege postoperatieve complicatie terwijl transplantaatafstoting (in 2.8%) en secundair transplantaatfalen (in 2.8 %) tot de ernstigere complicaties in de latere postoperatieve periode behoorden. Re-keratoplastiek was nodig in een relatief laag percentage (8.8%) van ogen.

DMEK in ogen met complexe pathologie

Met specifieke chirurgische aanpassingen bleek DMEK uitvoerbaar in ogen met glaucoom en een al aanwezige drainage-implant en leverde het aanvaardbare klinische resultaten op (**hoofdstuk 5**).^{17,18} Onze data tonen aan dat de aanwezigheid van een drainage-implant de levensduur van het transplantaat kan verminderen en aanleiding kan geven tot frequentere noodzaak tot re-keratoplastiek. De overlevingskans van het transplantaat in de eerstgenoemde groep ogen was 89% bij 1 jaar na DMEK, en daalde tot 67% bij 2 jaar na DMEK. De aanwezigheid van een drainage-implant had een slechte invloed op de donor endotheelceldichtheid (ECD). Eén jaar na DMEK was de ECD-daling 71%, wat bijna twee keer zo hoog is als voor ons standaard DMEK cohort. De incidentie van secundair transplantaatfalen (8.7%) was ook hoger vergeleken met ons standaard DMEK-cohort (2.0%). De oorzaak is mogelijk multifactorieel: veranderingen in de circulatiepatronen van het kamerwater als gevolg van de drainage-implant kunnen mogelijk de levensvatbaarheid van de endotheelcellen negatief beïnvloeden, of de drainage-implant zelf kan de bloed-kamerwater barrière hebben verstoord, o.a. als gevolg van hevig op het oog wrijven of krachtig knippen. Dit kan leiden tot een toename van de instroom van oxidatieve en inflammatoire eiwitten die mogelijk schade kunnen toebrengen aan de endotheelcellen van het hoornvlies.¹⁹⁻²⁴ Bovendien kunnen ogen met glaucoom die een drainage-implant nodig hebben, ook vatbaarder

zijn voor immuunreacties, omdat glaucomateuze ganglioncelschade mogelijk gerelateerd is aan immuunreacties.²⁵

Loslating van het transplantaat was de voornaamste vroege postoperatieve complicatie, met als gevolg dat bij 22% van de ogen een re-bubbling procedure moest worden uitgevoerd. Dit kan erop wijzen dat ogen met een drainage-implant meer risico lopen op chirurgische complicaties die mogelijk verband houden met de moeilijkheden om de druk te verhogen tegen het eind van de operatie.

De meeste van de waargenomen postoperatieve complicaties lijken inherent te zijn aan de aanwezigheid van een drainage-implant en kunnen gedeeltelijk worden voorkomen met behulp van chirurgische aanpassingen.^{17,18} Voor deze selecte groep patiënten is het noodzakelijk om adequate begeleiding te bieden.

Gemodificeerde DMEK-technieken

Descemet membraan endotheliale transfer

In de beginjaren van EK werd algemeen aangenomen dat volledige hechting van het donorweefsel aan het centrale gedeelte van het hoornvlies van de gastheer nodig was om de helderheid van het hoornvlies te herstellen en visuele rehabilitatie te induceren. In de afgelopen tien jaar is in een toenevend aantal studies een spontane opheldering van het hoornvlies beschreven in aanwezigheid van een losliggend endotheeltransplantaat na DS(A)EK of DMEK, en in afwezigheid van een endotheeltransplantaat, dat wil zeggen na 'geïsoleerde descemetorhexis'. Deze observaties hebben bovenstaande hypothese en de noodzaak tot endotheelceltransplantatie na descemetorhexis in twijfel getrokken.²⁶⁻⁴⁰ Descemet membraan endotheliale transfer (DMET), waarbij de descemetorhexis wordt gevolgd door het inbrengen van een bijna volledig vrij zwevende Descemet-rol (d.w.z. met fixatie van een heel klein gedeelte van het transplantaat in een corneosclerale incisie om contact met het achterste gedeelte van het hoornvlies te verzekeren) is een techniek met als doel opheldering van het hoornvlies te induceren door endotheelcelmigratie.⁴¹

Onze initiële evaluatie van DMET omvatte een cohort van 12 ogen van 12 patiënten, zeven geopereerd voor FED en vijf voor BK, en toonde repopulatie van het posterieure stroma van de ontvanger en opheldering van het hoornvlies in alle ogen die werden geopereerd voor FED, maar niet in de ogen die werden

geopereerd voor BK.^{41,42} Dit doet de suggestie dat de onderliggende pathologie de belangrijkste determinant van de primaire klinische uitkomst zou kunnen zijn en dat met name endotheelcellen van de gastheer, en niet van de donor, bijdragen aan de opheldering van het hoornvlies.

Hoewel DMET aanvankelijk veelbelovende resultaten toonde in FED-ogen, toonde ons onderzoek naar de langetermijnresultaten van DMET-operaties aan dat, ongeacht de etiologie van de endotheelceldisfunctie, alle hoornvliezen uiteindelijk decompenseerden en re-EK nodig hadden (**hoofdstuk 6**).⁴³ Het regeneratieve vermogen van endotheelcellen in FED-ogen is waarschijnlijk ontoereikend om volledige en blijvende opheldering van het hoornvlies na DMET te bewerkstelligen. Volledige en blijvende rehabilitatie van het hoornvlies vereist zeer waarschijnlijk een (bijna) volledig, centraal aangehecht endotheeltransplantaat.

Hemi-DMEK

In 2014 werd Hemi-DMEK geïntroduceerd. Deze techniek maakt het mogelijk om één hoornvlies voor twee EK-procedures in twee FED-ogen van twee verschillende gastheren te gebruiken en heeft de potentie om de beschikbaarheid van endotheliale donorweefsel te verdubbelen.⁴⁴

Ons eerste cohort van tien Hemi-DMEK-ogen heeft aangetoond dat met Hemi-DMEK hetzelfde niveau van visuele rehabilitatie kan worden bereikt als met conventionele DMEK (**hoofdstuk 7**).⁴⁵⁻⁴⁹ Hoewel opheldering van het perifere hoornvlies vertraagd optrad door lege stromale gebieden als gevolg van de mismatch van de cirkelvormige descemetorhexis en de halfronde vorm van het Hemi-DMEK-transplantaat, werd opheldering van het centrale hoornvlies van de gastheer niet negatief beïnvloed doordat het Hemi-DMEK-transplantaat precies zo werd gepositioneerd dat deze het centrale gedeelte van het hoornvlies bedekte, wat resulteerde in een snelle visuele rehabilitatie.

In de eerste zes maanden na Hemi-DMEK werd een grotere afname in ECD waargenomen dan na conventionele DMEK (65% versus 34%). Dit kan mogelijk worden verklaard door de verschillende patronen van endotheelcelredistributie en -migratie na Hemi-DMEK vergeleken met de conventionele DMEK-techniek, met name als gevolg van grotere lege stromale gebieden. Daarnaast kunnen ECD-metingen in verschillende gebieden van het transplantaat (centraal voor conventionele DMEK en meer perifeer of aan de rand van het Hemi-DMEK-transplantaat) leiden tot het verschil in ECD-daling. Na een aanvankelijke da-

ling in ECD, werd een jaarlijkse daling van ongeveer 6-7% in ECD gemeten, wat vergelijkbaar is met conventionele DMEK. Net zoals bij conventionele DMEK was de belangrijkste complicatie na Hemi-DMEK (partiële) loslating van het transplantaat (40%), wat gerelateerd kan worden aan de leercurve voor deze gemodificeerde DMEK-techniek. Een bijkomende factor kan het verschil in de vorm van het transplantaat zijn, omdat het Hemi-DMEK-transplantaat één kortere as heeft. Een groter aantal re-bubbling procedures moest worden verricht vanwege loslating van het transplantaat. Dit komt doordat kleine (partiële) loslatingen van het transplantaat bij Hemi-DMEK vaker de visuele as betreffen.

Quarter-DMEK

Gezien het aanvankelijke succes van Hemi-DMEK en het doel om hoornvliesdonorweefsel nog efficiënter te gebruiken, werd Quarter-DMEK geïntroduceerd.⁵⁰ Quarter-DMEK biedt het theoretische voordeel van een lagere antigeenbelasting door de donor en een mogelijke verviervoudiging van de hoeveelheid endotheliaal donorweefsel beschikbaar voor transplantatie omdat vier Quarter-DMEK-transplantaten kunnen worden verkregen, uit één donorcornea die vervolgens getransplanteerd kunnen worden in vier verschillende gastheren.⁵⁰ In onze eerste reeks van 19 Quarter-DMEK-ogen waren de BCVA-waarden gelijk aan de BCVA-waarden na conventionele- en Hemi-DMEK (**hoofdstuk 8**).^{51,52} Quarter-DMEK resulteerde in snelle visuele rehabilitatie, echter de opheldering van het hoornvlies was trager dan na conventionele DMEK en bleef vooral achter langs de ronde, limbale rand van het Quarter-DMEK-transplantaat en de aangrenzende kale stromale gebieden.^{51,52}

Uit *in vitro*-evaluatie van orgaan-gekweekte Quarter-DMEK-transplantaten is gebleken dat de migratie van endotheelcellen asymmetrisch is en voornamelijk plaatsvindt langs de radiale snijranden van het transplantaat, en niet langs de ronde rand van het transplantaat, d.w.z. de limbale periferie van het transplantaat.⁵³ Deze asymmetrische migratie van endotheelcellen van de cornea kan worden toegeschreven aan de verschillen in moleculaire structuur van de perifere DM.⁵³ Met de (initiële) opheldering van het hoornvlies en de endotheelcelmigratie die voornamelijk langs de radiale snijranden van het transplantaat plaatsvinden, zou het kunnen lonen om het transplantaat excentrisch te positioneren, dat wil zeggen met zijn radiale snijranden in de buurt van het pupillaire gebied en de perifere ronde rand in de buitenste rand van de cornea, ter preventie van een langzame vermindering van hoornvliesoedeem in de visuele as.

Visueel significante loslating van het transplantaat die een re-bubbling procedure vereist (42%) kwam in een vergelijkbaar percentage voor als na Hemi-DMEK (40%) maar in een iets hoger percentage vergeleken met de eerste 25 DMEK-operaties van de oorspronkelijke conventionele DMEK serie (36%). Dit kan te maken hebben met de moeilijke hanteerbaarheid van het transplantaat gedurende de operatie, met incongruente krommingen van het hoornvlies omdat het paracentrale gedeelte van het donorweefsel afgestemd wordt op het centrale hoornvlies van de gastheer, en/of met het feit dat loslating van het transplantaat bij Quarter-DMEK bijna altijd de visuele as betreft waardoor een re-bubbling procedure eerder wordt verricht. Net als bij Hemi-DMEK werd in de eerste zes maanden na de operatie een sterke initiële daling in de ECD waargenomen (68%), waarna een minder sterke daling volgde. Dit zou enerzijds kunnen komen door de verhoogde mate van chirurgische manipulatie van het transplantaat bij Hemi- en Quarter-DMEK en anderzijds door migratie van endotheelcellen die de kale stromale gebieden, als gevolg van de mismatch tussen de grote descemetorhexis en het kleinere Quarter-DMEK transplantaat, proberen te repopuleren.

Quarter-DMEK zou baat hebben bij: 1. het gebruik van een kleinere descemetorhexis (diameter) met als doel het oppervlak van de kale gebieden die moeten worden gerepopuleerd met endotheelcellen te verkleinen; 2. gemodificeerde protocollen voor preparatie van het Quarter-DMEK-transplantaat om zo het verlies van endotheelcellen langs de radiale snijranden van het transplantaat te minimaliseren en/of 3. door het elimineren van de ronde perifere rand van het Quarter-DMEK-transplantaat om zo de endotheelcelmigratie in de richting van het aangrenzende kale gebied in de perifere hoornvliesrand te bevorderen. Hoewel Quarter-DMEK voldoende opheldering van het hoornvlies kan induceren, zou lokale toediening van Rho-geassocieerde kinase (ROCK)-remmers, zoals ook toegepast bij 'Descemet stripping only' en endotheelcel-injectietherapieën, mogelijk de endotheelcelmigratie en de opheldering van het hoornvlies verder kunnen verbeteren.^{54,55}

Slotopmerkingen

Preparatietechnieken voor DMEK-transplantaten zijn divers en hebben verschillende sterke en zwakke punten. Hoewel de toegepaste preparatietechniek het klinische resultaat na DMEK kan beïnvloeden, hoeft één enkele techniek niet universeel te worden toegepast. Het is echter belangrijk dat corneachirurgen en oogbankspecialisten die DMEK-donorweefsel prepareren op de hoogte zijn van de verschillende beschikbare technieken, zodat ze de beste benadering kunnen kiezen voor henzelf en voor hun specifieke situatie.

Verschillende studies hebben aangetoond dat DMEK resulteert in uitstekende klinische resultaten, zowel op de korte als op de middellange termijn, en voor verschillende chirurgische indicaties zowel voor FED als BK. DMEK bleek bovendien haalbaar in veel ogen met een complexere pathologie zoals glaucomateuze ogen met een drainage-implantaat. Hoewel DMEK aanvankelijk veelbelovende resultaten toonde voor FED-ogen, faalde deze techniek uiteindelijk om een volledige en blijvende opheldering van het hoornvlies te bewerkstelligen. Dit benadrukt het belang van een goed aangehecht endotheeltransplantaat bij het bereiken van blijvende opheldering van het hoornvlies. Daarom zal in conventionele DMEK voorlopig de voorkeursbehandeling blijven er voor de lange termijn behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel.

Hemi-DMEK en Quarter-DMEK hebben potentie omdat de procedures klinische resultaten leveren die vergelijkbaar zijn met die van conventionele DMEK en daarbij de beschikbaarheid van endotheliaal donorweefsel kunnen vergroten. Indien studies met een langere follow-up duur aantonen dat de resultaten stabiel blijven, hebben deze technieken, in specifieke ogen met een beginstadium van FED, de potentie een alternatief te worden voor conventionele DMEK. Quarter-DMEK kan baat hebben van de ontwikkeling van chirurgische aanpassingen zodat optimalere klinische resultaten verkregen kunnen worden voor wat betreft de afname in de endotheelceldichtheid. Aanvullende studies zijn nodig ter verdere evaluatie van deze relatief nieuwe techniek.

Toekomstperspectief

State of the art lamellaire keratoplastie technieken hebben de klinische resultaten van hoornvliestransplantaties aanzienlijk verbeterd en het aantal postoperatieve complicaties, zoals afstoting en falen van het transplantaat, verminderd. Desalniettemin blijven postoperatieve complicaties een belangrijke oorzaak van re-keratoplastiek terwijl er tegelijkertijd wereldwijd een tekort aan hoornvliesdonorweefsel bestaat. De ontwikkelingen op het gebied van regeneratie van het cornea-endotheel zijn daarom gericht op het overwinnen van deze obstakels.

In de afgelopen jaren zijn Descemet stripping zonder endotheliale keratoplastiek (DWEK), ook wel bekend als Descemet stripping only (DSO), de klinische toepassing van *in vitro* gekweekte endotheelcellen, farmaceutische middelen zoals Rho kinase (ROCK)-remmers en genterapie voorgesteld als alternatieve of aanvullende behandelingsopties in de behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel.

De talrijke waarnemingen van spontane opheldering van het hoornvlies in ogen met een endotheeldefect in afwezigheid van een endotheeltransplantaat leidden tot de introductie van de DWEK voor de behandeling van vroege FED-stadia.^{26,27,36} Zoals de naam al doet vermoeden, wordt bij deze techniek het aangedane centrale deel van het Descemet Membraan (DM) en het nog aanwezige endotheel verwijderd zonder dat er donorendotheel wordt getransplanteerd.^{29-35,37-40} DWEK heeft als doel de centripetale migratie van gezonde, perifere endotheelcellen te stimuleren ter vervanging van het centrale endotheel. Initiële case series betreffende de klinische uitkomsten van DWEK leverden gemengde resultaten op, waarbij de beste resultaten qua opheldering van het hoornvlies werden gerapporteerd voor operaties waarbij een kleine descemetorhexis van ongeveer drie à vier mm werd toegepast.⁵⁴ Dit kan worden verklaard door het beperkte en vergankelijke vermogen van het gastheer-endotheel om zichzelf te herstellen in ogen met FED, zoals waargenomen na DMET. Nadelen van DWEK zijn onder meer de onvoorspelbaarheid van opheldering van het hoornvlies en het gebleken suboptimale zicht op de langere termijn.⁵⁴ Voor deze techniek zijn snelle, langzame en niet-responsieve ogen beschreven. Aangezien er geen donorweefsel wordt gebruikt, worden de primaire uitkomsten bepaald door patiënt óf chirurgische factoren. In langzaam tot niet-responsieve ogen wordt de aanwezigheid van posterieure stromale littekens, gerelateerd aan loshalen van het stroma, vaker waargenomen.⁵⁴ Dit leidde tot de aanbeveling om DM te strippen zonder

dit eerst over 360 graden los te halen, met als doel zoveel mogelijk perifere endotheelcellen te behouden en de celmigratie te maximaliseren. Ook werd aanbevolen om de nadruk te leggen op de symmetrie en het centrering van de descemetorhexis gedurende de operatie om zo het optreden van 'ghosting' en irregulair astigmatisme te minimaliseren. Farmacologische hulpmiddelen zoals ROCK-remmers zouden het visuele herstel aanzienlijk kunnen versnellen en een hoger aantal centrale endotheelcellen. Bovendien worden ROCK-remmers beschreven als laatste redmiddel bij aanvankelijk niet-succesvolle DWEK-procedures.^{56,57} Indien DWEK onvoldoende opheldering van het hoornvlies geeft, kan aansluitend alsnog EK worden verricht met een gunstige prognose. Hoewel DWEK een kosteneffectieve en tijdsefficiënte procedure zou kunnen zijn, is de wereldwijde acceptatie tot nu toe uitgebleven als gevolg van de inconsistente uitkomsten. Grotere studies met een langere follow-up duur zijn nodig om de potentie van deze techniek verder te evalueren.

In navolging van het concept van DWEK en nadat bij *in vitro* tests bleek dat endotheelcelmigratie na descemetorhexis mogelijk wordt vergemakkelijkt door de aanwezigheid van een Descemet membraan, werd de combinatie van primaire descemetorhexis gevolgd door acellulaire Descemet-membraan-transplantatie (DMT) geïntroduceerd.^{58,59} Een eerste *in vivo* studie bij de mens toonde de potentie van deze techniek aan in het bereiken van repopulatie van het getransplanteerde acellulaire DM-transplantaat met gezonde, perifere gastheer-endotheelcellen en opheldering van het hoornvlies.⁶⁰ Verder onderzoek is nodig om de toegevoegde klinische waarde van deze techniek nader te bepalen.

Endotheelcellen van de humane cornea kunnen zich uitrekken en migreren, maar er wordt verondersteld dat zij zich niet *in vivo* vermenigvuldigen, terwijl zij dit *in vitro* wel doen.⁶¹⁻⁶⁴ Momenteel is EK de enige manier om aangedane, zieke endotheelcellen van de cornea (CEC) te vervangen. Het wereldwijde tekort aan endotheeltransplantaten heeft geleid tot de ontwikkeling van '*in vitro* gekweekte endotheelcellen', die vervolgens in de mens kunnen worden getransplanteerd. Transplantatie van *in vitro* gekweekte endotheelcellen is in principe gebaseerd op twee primaire benaderingen: drager-gebaseerd en cel-gebaseerd. Het concept van CEC-transplantatie werd geïntroduceerd door Jumblatt et al. in 1978.⁶⁵ In een proefdieronderzoek met konijnenogen werd aangetoond dat volledige transplantatie van een konijnen hoornvlies, bedekt met gekweekte endotheelcellen van een konijn, de transparantie van het hoornvlies kon herstellen.⁶⁶ Sindsdien hebben verscheidene studies de

haalbaarheid van het transplanteren van CEC om de helderheid van het hoornvlies te herstellen aangetoond, niet alleen *in vitro* maar ook *in vivo* met zowel niet-humane als humane CEC.⁶⁷⁻⁷⁰ Alle aanvankelijk gerapporteerde procedures vereisten echter het gebruik van een menselijke donorcornea als drager van de CEC, wat de theoretische voordelen van gekweekte CEC-transplantatie teniet deed aangezien er nog steeds evenveel donorcornea's nodig zouden zijn om de patiënten te behandelen.⁷¹ De introductie en het succes van lamellaire keratoplastie technieken zoals DS(A)EK en DMEK inspireerden wetenschappers tot het *in vitro* kweken van endotheelcelmembranen die vervolgens als een DS(A)EK/DMEK-transplantaat konden worden geïmplantéerd door middel van een DSAEK/DMEK-procedure. In eerdere *in vitro* studies is het gebruik van geïsoleerde DM, humane anterieure lenscapsules (HALC) en biotechnologische membranen bestaande uit zijde-fibroïne, collageen, gelatine of een combinatie van biopolymeren, als potentiële dragers voor gekweekte CEC geëvalueerd.^{68,71-80} In latere *in vivo* proefdierstudies werd het gebruik van (gecrosslinkte) collageen membranen, door plastic samengeperste type I collageen membranen 'REAL architecture for 3D tissues' (RAFT) en biologische dragers zoals DM, HALC en amnion membraan getest.^{72,78,79,81-84} Geen van de dragers die tot nu toe in de literatuur zijn vermeld, zijn echter een adequate vervanging van de huidige standaard EK-technieken en daarom hebben *in vitro* gekweekte endotheelcel-drager constructies nog geen toepassing gevonden in de klinische praktijk.

Om drager-gerelateerde uitdagingen te vermijden, werden alternatieve methoden voor transplantatie van gekweekte CEC getest, zoals het injecteren van vrij zwevende cornea-endotheelcellen in de voorste oogkamer. In 2018 toonde een 'proof of concept' klinische studie van Kinoshita et al. aan dat injectie van humane CEC in 11 humane ogen met BK de endotheellaag kon herstellen.⁵⁵ Na verwijdering van een deel van het aangedane hoornvliesendotheel (ongeveer acht mm in diameter) met een naald met een siliconen tip, werden *ex vivo* gekweekte CEC, tezamen met een ROCK-remmer, geïnjecteerd in de voorste oogkamer van de patiënt. Alle ogen toonden regeneratie aan van de éénlagige, vliesachtige structuur en herstel van de transparantie van het hoornvlies. 24 weken na de celinjectie bedroeg de ECD meer dan 500 cellen/mm² (spreiding, 947 tot 2833 cellen/mm²).

Hoewel het injecteren van gekweekte CEC in de voorste oogkamer een veelbelovende minimaal invasieve benadering is, zijn grotere, prospectieve, gerandomiseerde studies nodig om deze techniek te verfijnen en om de werk-

zaamheid en veiligheid op de lange termijn te garanderen. Het betreft hierbij studies ter evaluatie van mogelijk schadelijke bijkomstige effecten (bijvoorbeeld vrij zwevende donorendotheelcellen die in de systemische circulatie terecht komen en de gevolgen daarvan), de immuunrespons (of het gebrek daaraan) van de gastheer op gekweekte geïnjecteerde endotheelcellen, de rol van HLA-matching en de mogelijke rol van ROCK-remmers.⁸⁵

Het is goed mogelijk dat acceptatie van deze techniek, ondanks de succesvolle resultaten, uiteindelijk traag verloopt, omdat de protocollen zorgvuldig moeten worden gestandaardiseerd en moeten voldoen aan strikte regelgeving en beleid, waaronder een goede manier van produceren (GMP) voor de cel productie wat momenteel leidt tot zeer hoge kosten in vergelijking met standaard EK.

Het gebruik van ROCK-remmers, als farmaceutisch therapeutisch middel of hulpmiddel bij de behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel, is een onderwerp dat sterk in de belangstelling staat. ROCK is een serine/threonine kinase dat dient als een essentiële downstream-effector van Rho-GTPase, en als zodanig invloed heeft op celadhesie, motiliteit, proliferatie, differentiatie en apoptose.⁸⁶⁻⁸⁹ Hoewel de meest bekende ROCK-remmer 'Y-27632' veelbelovende resultaten heeft aangetoond bij het bevorderen van de regeneratie van het hoornvliesendotheel in *in vitro* experimenten en in *in vivo* proefdiermodellen, lijkt het voorbarig om aan te nemen dat alle gunstige effecten van ROCK-remmers die in diermodellen zijn waargenomen, bij de mens zullen kunnen worden gereproduceerd aangezien dierlijke CEC een sterkere regeneratieve potentie hebben.⁸⁹⁻⁹⁸ ROCK-remmers zijn ook beschreven als laatste redmiddel voor DWEK en als complementaire therapie bij DWEK en celtherapie.^{54,84,97} Hoewel ROCK-remmers potentie hebben, moet hun werkzaamheid en veiligheid op het gebied van hoornvliesregeneratie *in vivo* verder worden vastgesteld in voldoende grote humane klinische studies.

Gentherapie wordt ook onderzocht als een mogelijke strategie in de behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel. Hoewel FECD genetisch heterogeen is, worden veel gevallen geassocieerd met toename van de trinucleotide cytosine-thymine-guanine (CTG) herhalingen in het TCF4-gen.⁹⁹ Opkomende therapieën die gebruik maken van antisense oligonucleotiden (AON) en prokaryotische geclusterde, regelmatig onderbroken palindromische repeat (CRISPR) endonucleases hebben als doel deze sequentie aan te pakken en de genexpressie ervan functioneel uit te schakelen.¹⁰⁰ Hoewel

ex vivo humane studies hebben aangetoond dat gentherapie een in potentie haalbare behandelingsoptie is in de behandeling/preventie van FED, moet verder onderzoek nog uitwijzen of dit ook geldt voor *in vivo* humane klinische studies.¹⁰¹⁻¹⁰⁵

Nieuwe behandelingsmodaliteiten zoals regeneratieve therapieën, transplantatie van *in vitro* gekweekte endotheelcellen en gentherapie zijn geïntroduceerd en hebben veelbelovende preliminaire resultaten laten zien. Verder onderzoek is nodig om de huidige technieken te verfijnen en de therapeutische relevantie van elk van ze vast te kunnen stellen. Tot die tijd zal EK de standaard blijven in de behandeling van aandoeningen van het cornea-endotheel.

REFERENTIES

1. Eye Bank Association of America. *2019 Eye Banking Statistical Report* Washington, DC: Eye Bank Association of America; 2020
2. Melles GR. Posterior lamellar keratoplasty: DLEK to DSEK to DMEK. *Cornea* 2006;25:879-81
3. Lam FC, Baydoun L, Dirisamer M, et al. Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty transplantation: a potential method for increasing the pool of endothelial graft tissue. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:1469-73
4. Müller TM, Lavy I, Baydoun L, et al. Case report of Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty for fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 2017;36:104-7
5. Birbal RS, Sikder S, Lie JT, et al. Donor tissue preparation for Descemet membrane endothelial keratoplasty: An updated review. *Cornea* 2018;37:128-35
6. Terry MA. Endothelial keratoplasty: why aren't we all doing Descemet membrane endothelial keratoplasty? *Cornea* 2012;31:469-71
7. Birbal RS, Ni Dhubghaill S, Bourgonje VJA, et al. Five-year graft survival and clinical outcomes of 500 consecutive cases after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea* 2020;39:290-7
8. Rodríguez-Calvo-de-Mora M, Quilendrin R, Ham L, et al. Clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology* 2015;122:464-70
9. Hamzaoglu EC, Straiko MD, Mayko ZM, et al. The first 100 eyes of standardized Descemet stripping automated endothelial keratoplasty versus standardized Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology* 2015;122:2193-9
10. Deng SX, Lee WB, Hammersmith KM, et al. Descemet membrane endothelial keratoplasty: safety and outcomes: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2018;125:295-310
11. Guerra FP, Anshu A, Price MO, et al. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: prospective study of 1-year visual outcomes, graft survival, and endothelial cell loss. *Ophthalmology* 2011;118:2368-73
12. Feng MT, Price MO, Miller JM, et al. Air reinjection and endothelial cell density in Descemet membrane endothelial keratoplasty: five-year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2014;40:1116-21
13. Schlögl A, Tourtas T, Kruse FE, et al. Long-term clinical outcome after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2016;169:218-26
14. Price DA, Kelley M, Price FW Jr, et al. Five-year graft survival of Descemet membrane endothelial keratoplasty (EK) versus Descemet stripping EK and the effect of donor sex matching. *Ophthalmology* 2018;125:1508-14
15. Schrittenlocher S, Schaub F, Hos D, et al. Evolution of consecutive Descemet membrane endothelial keratoplasty outcomes throughout a 5-year period performed by two experienced surgeons. *Am J Ophthalmol* 2018;190:171-8
16. Birbal RS, Baydoun L, Ham L, et al. Effect of surgical indication and preoperative lens status on Descemet membrane endothelial keratoplasty outcomes. *Am J Ophthalmol* 2020;212:79-87

17. Birbal RS, Tong CM, Dapena I, et al. Clinical outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty in eyes with a glaucoma drainage device. *Am J Ophthalmol* 2019;199:150-8
18. Birbal RS, Tong CM, Dapena I, et al. Reply to a comment: Clinical outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty in eyes with a glaucoma drainage device. *Am J Ophthalmol* 2019;208:440-1
19. Kim P, Amiran MD, Lichtinger A, et al. Outcomes of Descemet stripping automated endothelial keratoplasty in patients with previous glaucoma drainage device insertion. *Cornea* 2012;31:172-5
20. Schoenberg ED, Levin KH, Savetsky MJ, et al. Surgical outcomes of DSAEK in patients with prior Ahmed glaucoma drainage device placement. *Eur J Ophthalmol* 2013;23:807-13
21. Topouzis F, Coleman AL, Choplin N, et al. Follow-up of the original cohort with the Ahmed glaucoma valve implant. *Am J Ophthalmol* 1999;128:198-204
22. Williams KA, Lowe M, Bartlett C, et al. Risk factors for human corneal graft failure within the Australian corneal graft registry. *Transplantation* 2008;86:1720-24
23. Anshu A, Price MO, Richardson MR, et al. Alterations in the aqueous humor proteome in patients with a glaucoma shunt device. *Mol Vis* 2011;17:1891-1900
24. Rosenfeld C, Price MO, Lai X, et al. Distinctive and pervasive alterations in aqueous humor protein composition following different types of glaucoma surgery. *Mol Vis* 2015;21:911-18
25. Chen H, Cho KS, Vu THK, et al. Commensal microflora-induced T cell responses mediate progressive neurodegeneration in glaucoma. *Nat Commun* 2018;10:9:3209
26. Balachandran C, Ham L, Verschoor CA, et al. Spontaneous corneal clearance despite graft detachment in Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Am J Ophthalmol* 2009;148:227-34
27. Price FW Jr, Price MO. Comment on "Spontaneous corneal clearance despite graft detachment after Descemet membrane endothelial keratoplasty." *Am J Ophthalmol* 2010;149:173-4; author reply 174-5
28. Zafirakis P, Kymionis GD, Grentzelos MA, et al. Corneal graft detachment without corneal edema after Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea* 2010;29:456-8
29. Moloney G, Petsoglou C, Ball M, et al. Descemetorhexis without grafting for Fuchs endothelial dystrophy—supplementation with topical ripasudil. *Cornea* 2017;36:642-8
30. Iovieno A, Neri A, Soldani AM, et al. Descemetorhexis without graft placement for the treatment of Fuchs endothelial dystrophy: pre-liminary results and review of the literature. *Cornea* 2017;36:637-41
31. Galvis V, Tello A, Berrospi RD, et al. Descemetorhexis without endothelial graft in Fuchs dystrophy. *Cornea* 2016;35:e26-8
32. Borkar DS, Veldman P, Colby KA. Treatment of Fuchs endothelial dystrophy by Descemet stripping without endothelial keratoplasty. *Cornea* 2016;35:1267-73
33. Moloney G, Chan UT, Hamilton A, et al. Descemetorhexis for Fuchs' dystrophy. *Can J Ophthalmol* 2015;50:68-72
34. Koenig SB. Planned Descemetorhexis without endothelial keratoplasty in eyes with Fuchs corneal endothelial dystrophy. *Cornea* 2015;34:1149-51

35. Satué Palacián M, Sánchez Pérez A, Idoipe Corta M, et al. Descemetorhexis and corneal clearing: a new perspective on the treatment of endothelial diseases. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2014;89:1-3
36. Koenig SB. Long-term corneal clarity after spontaneous repair of an iatrogenic Descemetorhexis in a patient with Fuchs dystrophy. *Cornea* 2013;32:886-8
37. Shah RD, Randleman JB, Grossniklaus HE. Spontaneous corneal clearing after Descemet's stripping without endothelial replacement. *Ophthalmology* 2012;119:256-60
38. Bleyen I, Saelens IE, van Dooren BT, et al. Spontaneous corneal clearing after Descemet's stripping. *Ophthalmology* 2013;120:215
39. Braunstein RE, Airiani S, Chang MA, et al. Corneal edema resolution after "Descemetorhexis." *J Cataract Refract Surg* 2003;29:1436-9
40. Ziaei M, Barsam A, Mearza AA. Spontaneous corneal clearance despite graft removal in Descemet stripping endothelial keratoplasty in Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 2013;32:e164-6
41. Dirisamer M, Ham L, Dapena I, et al. Descemet membrane endothelial transfer: "Free-floating" donor Descemet implantation as a potential alternative to "keratoplasty." *Cornea* 2012;31:194-7
42. Dirisamer M, Yeh RY, van Dijk K, et al. Recipient endothelium may relate to corneal clearance in Descemet membrane endothelial transfer. *Am J Ophthalmol* 2012;154:290-6
43. Birbal RS, Parker J, Dirisamer M, et al. Descemet Membrane Endothelial Transfer: Ultimate Outcome. *Cornea* 2018;37:141-4
44. Lam FC, Baydoun L, Dirisamer M, et al. Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty transplantation: a potential method for increasing the pool of endothelial graft tissue. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:1469-73
45. Lam FC, Baydoun L, Satué M, et al. One year outcome of Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015;253:1955-8
46. Lie JT, Lam FC, Groeneveld-van Beek EA, et al. Graft preparation for Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty (hemi-DMEK). *Br J Ophthalmol* 2016;100:420-4
47. Gerber-Hollbach N, Parker J, Baydoun L, et al. Preliminary outcome of Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *Br J Ophthalmol* 2016;100:1564-8
48. Müller TM, Baydoun L, Melles GR. 3-Year update on the first case series of Hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255:213-5
49. Birbal RS, Hsien S, Zygoura V, et al. Outcomes of Hemi-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea* 2018;37:854-8
50. Müller TM, Lavy I, Baydoun L, et al. Case report of Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 2017;36:104-7
51. Zygoura V, Baydoun L, Ham L, et al. Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty (Quarter-DMEK) for Fuchs endothelial corneal dystrophy: 6 months clinical outcome. *Br J Ophthalmol* 2018;102:1425-30
52. Birbal RS, Ni Dhubghaill S, Baydoun L, et al. Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: One- to Two-Year Clinical Outcomes. *Cornea* 2020;39:277-82
53. Miron A, Spinozzi D, Bruinsma M, et al. Asymmetrical endothelial cell migration from in vitro Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty grafts. *Acta Ophthalmol* 2018;96:828-33

54. Garcerant D, Hirnschall N, Toalster N, et al. Descemet's stripping without endothelial keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol* 2019;30:275-85
55. Kinoshita S, Koizumi N, Ueno M, et al. Injection of cultured cells with a ROCK inhibitor for bullous keratopathy. *N Engl J Med* 2018; 378: 995-1003
56. Huang MJ, Kaine S, Dhaliwal DK. Descemetorhexis without endothelial keratoplasty versus DMEK for treatment for Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Cornea* 2018; 37: 1479-83
57. Macsai MS, Shiloach M. Use of topical rho kinase inhibitors in the treatment of Fuchs dystrophy after Descemet stripping only. *Cornea* 2019; 38: 529-534
58. Bhogal M, Lwin CN, Seah XY, et al. Allogeneic Descemet's Membrane Transplantation Enhances Corneal Endothelial Monolayer Formation and Restores Functional Integrity Following Descemet's Stripping. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017 1;58:4249-4260
59. Soh YQ, Peh G, George BL, et al. Predictive Factors for Corneal Endothelial Cell Migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:338-48
60. Soh YQ, Mehta JS. Regenerative Therapy for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea* 2018;37:523-27
61. Joyce NC, Meklir B, Joyce SJ, et al. Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 645-55
62. Joyce N. Proliferative capacity of corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2012; 95: 16-23
63. Baum JL, Niedra R, Davis C, et al. Mass culture of human corneal endothelial cell. *Arch Ophthalmol* 1979; 97: 1136-40
64. Soh YQ, Peh GS, Mehta JS. Translational tissues for human corneal endothelial tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2017; 11: 2425-42
65. Jumblatt MM, Maurice DM, McCulley JP. Transplantation of tissue-cultured corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:1135-41
66. Jumblatt MM, Maurice DM, McCulley JP. Transplantation of tissue-cultured corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:1135-41
67. Gospodarowicz D, Greenburg G, Alvarado J. Transplantation of cultured bovine corneal endothelial cells to rabbit cornea: clinical implications for human studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979;76:464-8
68. Ishino Y, Sano Y, Nakamura T, et al. Amniotic membrane as a carrier for cultivated human corneal endothelial cell transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:800-06
69. Sumide T, Nishida K, Yamato M, et al. Functional human corneal endothelial cell sheets harvested from temperature-responsive culture surfaces. *Faseb J* 2006;20:392-4
70. Hitani K, Yokoo S, Honda N, et al. Transplantation of a sheet of human corneal endothelial cell in a rabbit model. *Mol Vis* 2008;14:1-9
71. Okumura N, Koizumi N. Regeneration of the Corneal Endothelium. *Curr Eye Res* 2020;45:303-12
72. Mimura T, Yamagami S, Amano S. Corneal endothelial regeneration and tissue engineering. *Progr Retin Eye Res* 2013;35:1-17
73. Mimura T, Yamagami S, Yokoo S, et al. Cultured human corneal endothelial cell transplantation with a collagen sheet in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2992-7
74. Watanabe R, Hayashi R, Kimura Y, et al. A novel gelatin hydrogel carrier sheet for corneal endothelial transplantation. *Tissue Eng Part A* 2011;17:2213-9

75. Liang Y, Liu W, Han B, et al. Fabrication and characters of a corneal endothelial cells scaffold based on chitosan. *J Mater Sci Mater Med* 2011;22:175-83
76. Parikumar P, Haraguchi K, Ohbayashi A, et al. Successful transplantation of in vitro expanded human cadaver corneal endothelial precursor cells on to a cadaver bovine's eye using a nanocomposite gel sheet. *Curr Eye Res* 2014;39:522-26
77. Parikumar P, Haraguchi K, Senthilkumar R, et al. Human corneal endothelial cell transplantation using nanocomposite gel sheet in bullous keratopathy. *Am J Stem Cells* 2018;7:18-24
78. Kopsachilis N, Tsinopoulos I, Tourtas T, et al. Descemet's membrane substrate from human donor lens anterior capsule. *Clin Exp Ophthalmol* 2012;40:187-94
79. Yoeruek E, Saygili O, Spitzer MS, et al. Human anterior lens capsule as carrier matrix for cultivated human corneal endothelial cells. *Cornea* 2009;28:416-20
80. Spinozzi D, Miron A, Bruinsma M, et al. Evaluation of the suitability of biocompatible carriers as artificial transplants using cultured porcine corneal endothelial cells. *Curr Eye Res* 2019;44:243-9
81. Navaratnam J, Utheim TP, Rajasekhar VK, et al. Substrates for expansion of corneal endothelial cells towards bioengineering of human corneal endothelium. *J Funct Biomater* 2015;6:917-45
82. Koizumi N, Sakamoto Y, Okumura N, et al. Cultivated corneal endothelial cell sheet transplantation in a primate model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4519-26
83. Levis HJ, Peh GS, Toh KP, et al. Plastic compressed collagen as a novel carrier for expanded human corneal endothelial cells for transplantation. *PLoS One* 2012;7:e50993
84. Peh GSL, Ang HP, Lwin CN, et al. Regulatory compliant tissue-engineered human corneal endothelial grafts restore corneal function of rabbits with bullous keratopathy. *Sci Rep* 2017;7:14149
85. Dana R. A new frontier in curing corneal blindness. *N Engl J Med* 2018 15;378:1057-8
86. Nakagawa O, Fujisawa F, Ishizaki T, et al. ROCK-I and ROCK-II, two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice. *FEBS Lett* 1996 26;392:189-93
87. Riento K and Ridley AJ. Rocks: multifunctional kinases in cell behavior. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:446-56
88. Narumiya S, Tanji M, and Ishizaki T. Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. *Cancer Metastasis Rev* 2009;28:65-76
89. Okumura N, Ueno M, Koizumi N, et al. Enhancement on primate corneal endothelial cell survival in vitro by a ROCK inhibitor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3680-7
90. Okumura N, Nakano S, Kay EP, et al. 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 15;55:318-29
91. Peh GS, Adnan K, George BL, et al. The effects of Rho-associated kinase inhibitor Y-27632 on primary human corneal endothelial cells propagated using a dual media approach. *Sci Rep* 2015 16;5:9167
92. Okumura N, Koizumi N, Ueno M, et al. Enhancement of corneal endothelium wound healing by Rho-associated kinase (ROCK) inhibitor eye drops. *Br J Ophthalmol* 2011;95:1006-9
93. Van Horn DL, Hyndiuk RA. Endothelial wound repair in primate cornea. *Exp Eye Res* 1975;21:113-24

94. Van Horn DL, Sendele DD, Seideman S, et al. Regenerative capacity of the corneal endothelium in rabbit and cat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:597-613
95. Matsubara M, Tanishima T. Wound-healing of the corneal endothelium in the monkey: a morphometric study. *Jpn J Ophthalmol* 1982;26:264-73
96. Okumura N, Koizumi N, Kay EP, et al. The ROCK inhibitor eye drop accelerates corneal endothelium wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013 3;54:2493-502
97. Okumura N, Inoue R., Okazaki R, et al. Effect of the Rho kinase inhibitor Y-27632 on corneal endothelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:6067-74
98. Okumura N, Okazaki Y, Inoue R, et al. Effect of the Rho-associated kinase inhibitor eye drop (ripasudil) on corneal endothelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:1284-92
99. Wieben ED, Aleff RA, Tang X, et al. Trinucleotide repeat expansion in the transcription factor 4 (TCF4) gene leads to widespread mRNA splicing changes in Fuchs' endothelial corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58: 343-52
100. Karimian A, Azizian K, Parsian H, et al. CRISPR/Cas9 technology as a potent molecular tool for gene therapy. *J Cell Physiol* 2019;234:12267-77
101. Zarouchlioti C, Sanchez-Pintado B, Hafford Tear NJ, et al. Antisense therapy for a common corneal dystrophy ameliorates TCF4 repeat expansion-mediated toxicity. *Am J Hum Genet* 2018;102:528-39
102. Hu J, Rong Z, Gong X, et al. Oligonucleotides targeting TCF4 triplet repeat expansion inhibit RNA foci and mis-splicing in Fuchs' dystrophy. *Hum Mol Genet* 2018;27:1015-26
103. Pinto BS, Saxena T, Oliveira R, et al. Impeding transcription of expanded microsatellite repeats by deactivated Cas9. *Mol Cell* 2017;68:479-90.e5
104. Chang YK, Hwang JS, Chung T-Y, et al. SOX2 activation using CRISPR/dCas9 promotes wound healing in corneal endothelial cells. *Stem Cells* 2018;36:1851-62
105. Zhu AY, Jaskula-Ranga V, Jun AS. Gene Editing as a Potential Therapeutic Solution for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy: The Future Is Clearer. *JAMA Ophthalmol* 2018 1;136:969-70