

# Understanding the complexity of the corneal endothelium for regenerative medicine

Citation for published version (APA):

Catala Quilis, P. (2023). *Understanding the complexity of the corneal endothelium for regenerative medicine*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20230913pq>

## Document status and date:

Published: 01/01/2023

## DOI:

[10.26481/dis.20230913pq](https://doi.org/10.26481/dis.20230913pq)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

The cornea is the clear window that lets light into the eye. Its inner surface is lined by a monolayer of corneal endothelial cells (CECs) that selectively pump ions and other metabolites, regulating the corneal hydration and maintaining the transparency of this avascular tissue. Human CECs are arrested in a non-dividing state, and their density slowly decreases over the years to an average of 2600 cells/mm<sup>2</sup> in healthy adults aged 60–79 years. Iatrogenic damage, ageing or genetic diseases can cause an accelerated loss of CECs, weakening the endothelial function, and thus affecting corneal hydration and causing corneal endothelial disease, which is characterized by corneal edema and opacity impairing sight.

Endothelial keratoplasty is the current therapy for corneal endothelial disease. Advances in surgical procedures are improving reproducibility and accessibility to corneal transplantation, causing an increase in the number of corneal transplantations globally. Unfortunately, there is currently a worldwide donor cornea shortage, aggravated by the increasing number of transplantations. It has been estimated that only one out of seventy patients in need has access to a donor cornea, and 12.7 million people in the world are awaiting treatment. The development of regenerative medicine approaches to treat corneal endothelial disease is necessary to tackle the increasing demand for donor corneal tissue and to provide treatment to those in need. Understanding the fundamental processes happening *in vitro* and *in vivo* are crucial aspects for developing such therapies and for their implementation from bench to bedside. The work described in this thesis addresses this need, with our main goal to contribute to the development of such innovative therapies.

We review the current and developing approaches for the regeneration of the corneal endothelium, presenting its pros and cons, but also providing a social perspective and a regulatory guide for the approval of such treatments in the European Union. We show experimentally that corneal endothelial tissue could be delivered to the operation theater preloaded in an injection cannula, without affecting its quality. This

system reduces iatrogenic tissue damage in the operation theater and can allow eye banks to send only the tissue necessary for the selective replacement of the corneal endothelium, optimizing donor availability for other procedures. We went on to use single cell RNA sequencing to elucidate the different cell populations composing the healthy cornea and to understand the transcriptomic changes and the emergence of side populations that occur during the primary expansion of CECs for therapeutic purposes. To understand why rabbits have proliferative CECs and the CECs from larger mammals such as humans and sheep are arrested and cannot divide, we studied the transcriptomic differences across these species. Finally, we summarize the main findings of this thesis, and present a perspective of how this research has impacted the field and discussed on how it is likely to develop.

## Samenvatting

Het hoornvlies is het doorzichtige venster dat licht het oog inlaat. De binnenzijde van het hoornvlies is bekleed met een monolaag van corneale endotheelcellen (CEC's) die selectief ionen en andere metaboliëten pompen, waarmee ze de hydratatie van de cornea reguleren en de transparantie van dit avasculaire weefsel waarborgen. Menselijke CEC's verouderen en komen in een niet-delende toestand, waardoor de dichtheid in de loop der jaren langzaam afneemt tot gemiddeld 2600 cellen/mm<sup>2</sup> bij gezonde volwassenen van 60-79 jaar. Iatrogene schade, veroudering of genetische ziekten kunnen een versneld verlies van CEC's veroorzaken en de endotheel functie verzwakken. Dit tast de hydratatie van het hoornvlies aan en leidt tot endotheel ziekte van het hoornvlies, dat wordt gekenmerkt door hoornvlies oedeem en vertroebeling wat het gezichtsvermogen aantast.

Endotheliale keratoplastiek is de huidige therapie voor cornea endotheel ziekte. Vooruitgang in chirurgische procedures heeft de reproduceerbaarheid en toegankelijkheid van hoornvliestransplantatie verbeterd, waardoor het aantal hoornvliestransplantaties wereldwijd is toegenomen. Helaas is er momenteel wereldwijd een tekort aan donorhoornvlies, gestegen door het toenemende aantal transplantaties. Er wordt geschat dat slechts één op de zeventig behoeftige patiënten toegang heeft tot een donorhoornvlies, en 12,7 miljoen mensen in de wereld wachten op behandeling. De ontwikkeling van regeneratieve geneeswijzen voor de behandeling van endotheel ziekte van het hoornvlies is noodzakelijk om de toenemende vraag naar hoornvliesweefsel van donoren aan te pakken en om behandeling te bieden aan mensen in nood. Kennis over fundamentele processen die *in vitro* en *in vivo* plaatsvinden, zijn cruciaal voor het ontwikkelen van dergelijke therapieën en voor translationele implementatie. Het werk beschreven in dit proefschrift richt zich op deze behoefte, met ons belangrijkste doel bij te dragen aan de ontwikkeling van dergelijke innovatieve therapieën.

We bespreken de huidige en ontwikkelende technieken voor de regeneratie van het cornea-endotheel, presenteren de voor- en nadelen, maar bieden ook een sociaal perspectief en een regelgevende gids voor de goedkeuring van dergelijke behandelingen in de Europese Unie. We laten experimenteel zien dat cornea-endotheel weefsel geladen in een injectiecanule kan worden getransporteerd naar de operatiekamer zonder de kwaliteit ervan aan te tasten. Dit systeem vermindert iatrogene weefselbeschadiging in de operatiekamer en kan oogbanken in staat stellen alleen het weefsel te sturen dat nodig is voor de selectieve vervanging van het cornea-endotheel, waardoor de donorbeschikbaarheid voor andere procedures wordt geoptimaliseerd. Vervolgens hebben we met het gebruik van single-cell RNA-sequencing de verschillende cel-populaties waaruit het gezonde hoornvlies bestaat opgehelderd om de transcriptomische veranderingen en de opkomst van nevenpopulaties die optreden tijdens de primaire expansie van CEC's voor therapeutische doeleinden te begrijpen. Om te begrijpen waarom konijnen proliferatieve CEC's hebben en de CEC's van grotere zoogdieren zoals mensen en schapen overgaan in groei-arrest, hebben we de transcriptomische verschillen tussen deze soorten bestudeerd. Ten slotte vatten we de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift samen en presenteren we een perspectief over de invloed van dit onderzoek op het veld en speculeren we over toekomstige ontwikkelingen.