



Par le docteur Jean-Pierre Lagacé  
optométriste, M.Sc.

## Cornées artificielles • le passé, le présent et le futur • partie 2



### Kératoprothèses souples

Des matériaux souples pour la jupe ont été adoptés ces dernières années pour augmenter la biointégration à partir d'une variété de polymères synthétiques avec ou sans biofonctionnalisation avec des macromolécules (**tableau 3**). Plusieurs KPros de type jupe et optique ont fait l'objet d'essais cliniques au fil des décennies, notamment la Keraklear<sup>94</sup>, la MIRO<sup>®</sup> Cornea<sup>95</sup>, la Legeais BioKpro III<sup>96</sup> et la Korea Seoul-type KPro<sup>97-100</sup>.

Nous nous concentrerons sur la kératoprothèse AlphaCor<sup>MC</sup>, la première KPro souple à avoir obtenu l'approbation de la FDA il y a près de 20 ans, tout en mentionnant les deux KPros synthétiques souples les plus récents qui ont commencé les essais cliniques l'année dernière (CorNeat, et EndoArt).

### Kératoprothèse AlphaCor<sup>MC</sup>

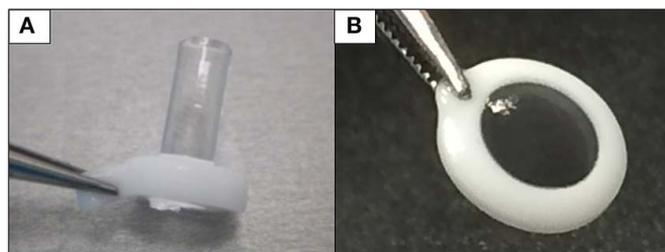
Chirila et coll. du Lions Eye Institute et de l'Université d'Australie occidentale à Perth ont cherché à produire une KPro « idéale ». Ils ont utilisé du poly (méthacrylate de 2-hydroxyéthyle) (PHEMA) réticulé pour former les composants optiques et ceux de la jupe<sup>101</sup>. Le PHEMA hydrophile forme un hydrogel par polymérisation. La jupe et l'optique sont chimiquement identiques, sauf que la jupe a une teneur en eau plus élevée, ce qui signifie qu'elle a des pores plus larges pour permettre la biointégration. L'optique et la jupe sont fusionnées par un IPN pour éviter les fuites ou la croissance du bas<sup>102, 103</sup>. Anciennement connue sous le nom de Chirila KPro, l'AlphaCor<sup>MC</sup> KPro a été approuvée par la FDA en 2003<sup>101</sup>. En 1998, la Chirila Type-I KPro originale a été implantée pour la première fois chez trois personnes dont la kératoplastie avait échoué et qui présentaient des cornées vascularisées et/ou cicatrisées. Ce dispositif a nécessité l'ablation de la cornée hôte sur toute son épaisseur et la mise en place d'un lambeau conjonctival pour protéger l'interface KPro-cornée pendant la cicatrisation postopératoire; ce lambeau est ensuite retiré au cours d'une deuxième étape chirurgicale.

## Keraklear

Keratoprosthesis	Materials	Schematic	References
Keraklear artificial cornea	PMMA + (polyethylene glycol) PEG		(94)
Keratoprosthesis	Materials	Schematic	References
Legeais	Fluorocarbon poly(tetrafluoroethylene) (PTFE)		(96)
Keratoprosthesis	Material	Schematic	References
MIRO® CORNEA UR keratoprosthesis	Hydrophobic acrylic polymer + Genetically engineered fibronectin		(95)
Keratoprosthesis	Material	Schematic	References
Alphacor keratioprosthesis	Polyhydroxyethyl methacrylate PHEMA		(97,98)
Keratoprosthesis	Material	Schematic	References
Korea Seoul-type keratoprosthesis	PMMA + PEG		(99,100)

**Tableau 3** Description des k eratoprot h ses souples commerciales avec des jupes à base de matériaux souples.

Malheureusement, deux dispositifs ont été rapidement extrudés en raison de la rétraction du lambeau conjonctival. L'insertion en pleine épaisseur augmentait le risque d'exposer la jupe poreuse après l'échec du lambeau conjonctival. En réponse à ces observations, une KPro plus fine (le Type II, AlphaCoMC KPro) a été développée, permettant l'implantation d'une poche lamellaire au lieu d'une insertion pleine épaisseur, suivie d'une seconde étape chirurgicale plusieurs semaines plus tard pour trépaner la cornée hôte antérieure. Dans un essai pilote portant sur quatre patients ayant reçu la KPro de type II, on n'a observé aucune complication postopératoire et on a pu améliorer les résultats à sept mois de suivi chez tous les individus<sup>103</sup>. Cette conception plus fine a ensuite été utilisée dans les essais cliniques de plus grande envergure qui ont permis à la FDA d'approuver le dispositif AlphaCor<sup>MC</sup><sup>104</sup>.



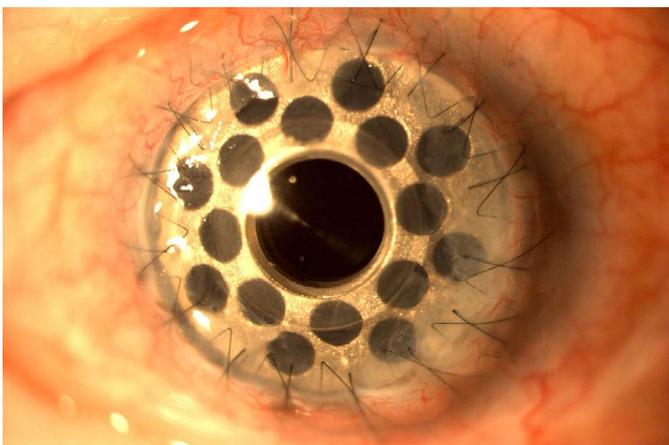
**Figure 2** Images numériques de l'AlphaCor<sup>MC</sup> produite par polymérisation de PHEMA de manière à obtenir un PHEMA transparent (optique) et blanc (jupe) avant (A) et après (B) lattage.

Les indications pour les kératoprothèses pénétrantes sont les suivantes<sup>105</sup> :

- Traitement des patients dont la vision est inférieure à 20/200 dans l'œil affecté.
- Patients dont la greffe de cornée a échoué avec la cornée d'un donneur et dont la vision est faible ou inexistante.
- Patients atteints de maladies non auto-immunes, de malformations congénitales et d'autres problèmes oculaires.
- Les patients qui n'ont pas accès à des tissus de greffe de cornée.

Les indications des kératoprothèses non pénétrantes sont les suivantes :

- Kératocône;
- Dystrophies cornéennes;
- Cicatrices cornéennes non liées à une inflammation active de l'œil;
- Œdème cornéen;
- Déficit en cellules souches limbiques (par exemple, aniridie);
- Échec des greffes de cornée avec un diagnostic initial non inflammatoire (par exemple, kératocône).



La kératoprothèse AlphaCor<sup>MC</sup>

Bien que le taux de réussite de la kératoprothèse soit élevé, certaines complications graves peuvent survenir dans de rares cas.

- Le glaucome et l'extrusion de l'implant sont des complications graves qui peuvent survenir.
- Une vitrite soudaine peut entraîner une réduction drastique de la vision. Il est toutefois possible de traiter cette affection par des antibiotiques ou par une petite intervention chirurgicale au laser.
- Une inflammation du tissu oculaire peut se produire. Cette affection peut également être traitée.

L'utilisation d'une kératoprothèse est généralement envisagée lorsque plusieurs greffes de cornée avec donneur ont échoué chez un patient. Une revue Cochrane n'a pas trouvé d'essais contrôlés comparant l'efficacité des cornées artificielles à celle des cornées de donneurs pour les transplantations répétées de cornées<sup>106</sup>.

Souvent, les patients présentent des conditions préexistantes, telles qu'une maladie maculaire ou une dépression glaucomateuse, qui limitent l'amélioration de l'AV. C'était le cas de nombreux patients dans l'étude menée par Hicks et coll. L'AV moyenne était de 20/200 et la plus faible était la perception de la lumière. De façon surprenante, un patient a atteint une AV de 20/20<sup>101</sup>. Jiraskova et coll. ont trouvé des MAVC allant des mouvements de la main à 20/25. Bien que les résultats en matière d'acuité visuelle soient prometteurs, la récupération de la vue a souvent été entravée par l'apparition de dépôts sur l'optique et la spoliation de la surface du dispositif. Hicks et coll. ont constaté que 11 % de tous les patients chez qui on avait implanté une AlphaCor<sup>MC</sup> présentaient des dépôts intraoptiques de calcium ou de pigments, quatre cas présentant des dépôts blancs et les quatre autres des dépôts bruns<sup>107</sup>. Les dépôts blancs avaient été associés à l'administration topique de stéroïdes et de bêtabloquants et les dépôts bruns étaient corrélés au tabagisme et à l'administration topique du bêtabloquant lévobunolo<sup>107</sup>. Il est intéressant de noter qu'une étude a exclu l'étape 2 du processus chirurgical, au cours de laquelle le tissu cornéen est retiré du volet antérieur, afin de déterminer si cela pouvait réduire le taux de fonte stromale, de dépôts et de fuites aqueuses. Aucun des six patients n'a eu de fonte stromale, d'infection, de fuite aqueuse ou d'extrusion<sup>108</sup>.

L'AlphaCor<sup>MC</sup> a été développée pour répondre aux problèmes observés dans les anciennes générations de KPros; à savoir le glaucome, l'endophtalmie, la formation d'une membrane rétroprosthétique et l'extrusion. L'AlphaCor<sup>MC</sup> est associée à une réduction des complications, mais la fonte du stroma cornéen et le dépôt optique ont constitué un revers majeur. Les efforts actuels pour améliorer le résultat clinique comprennent l'amélioration de la rigidité du matériau de la jupe pour permettre une meilleure suture du dispositif dans l'œil hôte. En outre, l'incorporation de gélatine pour améliorer l'attachement et la prolifération des cellules est également envisagée pour améliorer la biointégration de la jupe du dispositif. En outre, des efforts sont faits pour améliorer l'optique de l'AlphaCor<sup>MC</sup>, comme l'ajout d'un comonomère de philtre UV pour éviter tout dommage associé aux UV sur la rétine, ainsi que l'utilisation d'un comonomère anti-calcification pour réduire le risque de dépôts optiques qui nuisent aux améliorations visuelles. On espère que ces modifications cibleront la majorité des complications précédemment relevées avec AlphaCor<sup>MC</sup> et que les futurs patients bénéficieront de ces résultats cliniques améliorés.

### La kératoprothèse AlphaCor<sup>MC</sup> : dispositif, technique chirurgicale et résultats cliniques

#### Objectif

Évaluation clinique de la kératoprothèse AlphaCor<sup>MC</sup> chez les patients à haut risque de rejet d'allogreffe de cornée<sup>109</sup>.

#### Design

Étude rétrospective.

## Patients et méthode

L'implantation de l'AlphaCor<sup>MC</sup> a été réalisée selon une technique chirurgicale en deux phases avec une insertion intrastromale, puis une exposition secondaire de l'optique après un intervalle de six mois. Les paramètres évalués étaient l'acuité visuelle et la survenue de complications postopératoires.

## Résultats

Quatorze implantations ont été réalisées. Le suivi moyen était de 15,6 ± 5,6 mois (de 2 à 24 mois). Le gain d'acuité visuelle moyen était de 2,5 ± 3,1 lignes (de 0 à +11 lignes). Vingt et un pour cent des patients présentaient une acuité supérieure ou égale à 1/10. Sept patients (50 %) ont présenté une nécrose stromale dont un cas (7,1 %) d'extrusion définitive de la prothèse, trois cas (21,4 %) ont nécessité la réalisation d'une kératoplastie transfixiante architectonique et chez trois patients, une greffe lamellaire a été réalisée. Le taux de rétention à l'issue du suivi était de 71,4 %. Trois patients (21,4 %) ont développé une membrane rétroprothétique. Un patient (7,1 %) a développé une endophtalmie tardive.

## Conclusion

L'AlphaCor<sup>MC</sup> est une solution thérapeutique chez les patients présentant une cécité cornéenne et chez qui la probabilité de survie d'une allogreffe de cornée est faible. Il est capital, au cours de l'évaluation préopératoire, de prendre en considération les principaux facteurs limitants de cette kératoprothèse selon ses indications; de plus, des études complémentaires sont nécessaires afin de préciser et déterminer la technique chirurgicale optimale d'implantation ainsi que l'efficacité des traitements postopératoires.

## Alternatives à la cornée synthétique

Une alternative intéressante à l'AlphaCor<sup>MC</sup> est la CorNeat KPro, une cornée stérile entièrement synthétique fabriquée à partir de matériaux inertes. Alors que l'AlphaCor<sup>MC</sup> tente une certaine biointégration avec le tissu natif (stroma), le tissu lui-même est avasculaire et sa cicatrisation est lente. La CorNeat KPro tire parti de l'environnement hautement vascularisé, riche en fibroblastes et régénérateur de la conjonctive et s'intègre au tissu.

Contrairement à la longue technique chirurgicale MOOKP, l'implantation de la CorNeat ne nécessite que 45 minutes d'opération à l'aide d'une trousse chirurgicale munie d'un marqueur et d'une pince. La lentille en PMMA est conçue pour s'enclencher sans effort dans une cornée trépanée. En cas de succès, le dispositif devrait résister à la PIO et préserver l'intégrité de l'œil. La jupe dégradable est implantée par voie sous-conjonctivale.

La CorNeat KPro est indiqué pour les personnes ayant subi un échec de kératoplastie ou une indication qui entraînerait un échec de kératoplastie<sup>10</sup>. La CorNeat est entré dans son premier essai clinique en Israël en janvier 2021 (ClinicalTrials.gov Identifier : NCT04485858). Plusieurs autres essais cliniques sont prévus et la date de mise sur le marché est prévue pour 2023. En outre, une société israélienne, EyeYon Medical, a produit une couche endothéliale synthétique connue sous le nom d'EndoArt<sup>11</sup>. Il s'agit d'un film polymère qui agit comme une barrière, empêchant l'excès de liquide de pénétrer dans la cornée depuis la chambre antérieure, évitant ainsi l'œdème cornéen et la perte de vision.

L'EndoArt est implantée par une procédure peu invasive et peut réduire un œdème préexistant, comme l'ont montré des études précliniques et un essai clinique précoce (ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03069521).

## Tendances futures pour les implants cornéens

Contrairement aux KPros, un domaine croissant de la recherche et du développement concerne les substituts cornéens visant à réduire la dépendance à l'égard des tissus de donneurs humains, en particulier pour les cas à faible risque qui constituent la majorité des transplantations cornéennes réalisées dans le monde. Divers biomatériaux ont été utilisés pour former des substituts cornéens d'épaisseur totale ou partielle afin de reproduire la structure et la fonction de la cornée. Des polymères naturels et synthétiques ont été utilisés comme échafaudages et substituts du stroma cornéen<sup>12</sup>. Les polymères naturels ont l'avantage d'être biocompatibles, mais les polymères synthétiques permettent de manipuler les propriétés chimiques et mécaniques pour répondre aux besoins individuels<sup>13</sup>.

Les biopolymères des composants de la matrice extracellulaire (MEC) sont à l'étude pour imiter le microenvironnement cornéen. En théorie, les composants de la matrice extracellulaire devraient être idéaux pour promouvoir et soutenir la régénération, car c'est la matrice extracellulaire qui soutient la croissance et le développement embryonnaire d'un organe. Le biomatériau idéal doit être biocompatible, transparent, solide (pour permettre les sutures et la PIO), non immunogène, réfractif, perméable aux nutriments et à l'oxygène, et résistant à la néo-angiogenèse<sup>14</sup>.

## Le collagène et ses dérivés

Le stroma cornéen, qui constitue la majeure partie de la cornée, est principalement constitué de collagène. Le collagène de type I est abondant dans plusieurs régions du corps et il est disponible dans le commerce<sup>15</sup>. Dans la cornée, le collagène de type I, III et V forme une structure complexe en forme de treillis qui offre une résistance considérable, mais il est difficile de reproduire cette structure en laboratoire en utilisant du collagène purifié provenant de différentes espèces et de différents tissus. Plusieurs traitements ont été appliqués aux hydrogels de collagène pour augmenter leur résistance à la traction<sup>14</sup>. Les hydrogels de collagène ont été comprimés plastiquement pour augmenter leur densité<sup>14</sup>, réticulés chimiquement (glutaraldéhyde, génipine), physiquement (traitement UV ou déshydrothermique) ou enzymatiquement (transglutaminase)<sup>13</sup>, et ajoutés à d'autres matériaux capables de former un IPN ou un double réseau<sup>16</sup>.

Une solution prometteuse pour les patients présentant un risque élevé d'échec de la greffe est un implant cornéen issu de la bio-ingénierie et fabriqué à partir de collagène humain recombinant de type III (RHCIII). Dans une étude clinique de phase I, Fagerholm et coll. ont préparé une cornée biosynthétique composée de collagène humain recombinant de type III réticulé avec les réticulants non toxiques de longueur zéro 1-éthyl-3-(3-diméthylamino-propyl)-carbodiimide hydrochloride et N-hydroxysuccinimide (EDC-NHS). Ils ont constaté que la cornée biomimétique présentait une bonne biointégration, régénérait l'épithélium cornéen, remplaçait partiellement le stroma cornéen et facilitait la régénération nerveuse, rétablissant ainsi le réflexe cornéen mieux que les allogreffes de cornée chez les patients à faible risque<sup>17</sup>.

Un suivi à 4 ans a montré que les 10 implants conservaient leur transparence et qu'aucun rejet de tissu n'avait été signalé<sup>118</sup>. Cependant, ces implants RHCIII n'étaient adaptés qu'aux patients à faible risque, car ils ont conduit à une néovascularisation dans des modèles de lapin présentant une pathologie sévère<sup>119</sup>.

Pour déterminer s'il était possible de réduire le risque de néovascularisation lié à l'implant chez les patients à haut risque, des implants RHCIII modifiés ont été mis au point pour inclure le phospholipide synthétique méthacryloyloxyéthyl phosphorylcholine (MPC).

Ces implants RHCIII-MPC s'étaient déjà révélés capables d'empêcher la vascularisation dans un modèle de lésion cornéenne par brûlure alcaline à haut risque<sup>119</sup>. Ce dispositif a été implanté chez trois patients souffrant d'ulcération, d'une diminution de l'intégrité de la cornée, de quasi-cécité et de douleurs et d'inconfort associés. Bien que les implants n'aient amélioré la vision que chez deux des trois patients, dans les trois cas, les implants sont restés exempts de néovascularisation après un an de suivi. Une restauration fonctionnelle de l'intégrité cornéenne a été observée, avec une régénération stable de l'épithélium cornéen et des nerfs, soulageant les trois patients de la douleur et de l'inconfort<sup>120</sup>.

En 2018, Islam et coll. ont greffé des implants cornéens acellulaires composés de collagène humain recombinant et de MPC par kératoplastie lamellaire antérieure<sup>121</sup>. Les patients étaient aveugles unilatéralement et présentaient un risque élevé d'échec de la greffe. Trois des six patients ont bénéficié d'une amélioration significative de leur vision et la stabilité cornéenne des autres patients était suffisante pour permettre une intervention chirurgicale visant à améliorer la vision. Les résultats de la greffe dans les cornées de mini-porcs étaient supérieurs à ceux des sujets humains, ce qui indique que les modèles animaux ne sont prédictifs que pour les patients ayant des cornées non sévèrement pathologiques<sup>121</sup>. Une autre méthode pour lutter contre la néovascularisation consiste à intégrer un nanosystème à libération prolongée de bévacicumab (un médicament anti-VEGF) dans les échafaudages biosynthétiques acellulaires<sup>122</sup>, tandis que l'ulcération et le déficit neurotrophique pourraient être traités par la libération prolongée de facteur de croissance nerveuse, démontrée récemment dans un échafaudage à base de collagène libérant le médicament de manière contrôlée pendant une période de 60 jours<sup>123</sup>.

## Autres greffes de cornée synthétique

Si l'on examine les autres options disponibles pour les greffes de cornée synthétique, l'AlphaCor et la ostéo-odonto-kératoprothèse ont donné des résultats similaires à ceux observés avec le Boston de type I.

Une étude réalisée par Jirásková et coll. a montré que le taux de survie du dispositif à 1, 2 et 3 ans était respectivement de 87 %, 58 % et 42 %. Une autre étude réalisée par Hicks et coll. a démontré que la MAVC postopératoire allait de la perception de la lumière (LP) à 20/30 avec des complications postopératoires limitées<sup>124, 125</sup>.

Dans une étude rétrospective portant sur les résultats de l'OOKP, les chercheurs ont constaté un taux de survie de 80 % à 20 ans, et 60 % des patients avaient une vision supérieure à 20/60<sup>126</sup>. Des études ont également comparé l'utilisation des appareils de Boston de type 1 et 2 à celle de l'OOKP.

Ces dispositifs sont difficiles à comparer, car l'OOKP est conçu pour les maladies à un stade avancé, tandis que le Boston de type I est destiné aux maladies moins compliquées avec un bon film lacrymal.

Le Boston de type II a été créé pour les maladies à un stade plus avancé; cependant, en comparaison avec l'OOKP, des taux plus élevés de fonte des tissus et de fuites aqueuses ont été observés dans les types I et 2. En outre, 20 % des KPros de Boston de type II et 33 % des KPros de Boston de type I ont dû être explantés et remplacés par un KPro supplémentaire ou une greffe de cornée tectonique. Cependant, des résultats comparables d'acuité visuelle de 20/40 ou mieux ont été obtenus avec les types 1 et 2 de Boston et avec l'OOKP chez des patients atteints du syndrome de Stevens-Johnson<sup>127</sup>.

## Complications postopératoires des kératoprothèses

Les complications postopératoires sont similaires, quel que soit le type de cornée synthétique utilisé. Les principales complications sont la formation d'une membrane rétroprothétique, l'élévation de la PIO/glaucome et l'endophtalmie infectieuse, mais la plus préoccupante est la fonte de la cornée ou la kératolyse stérile.

Une analyse cumulative des séries de cas qui ont fait état d'une fonte de la cornée a montré que plus la durée de suivi est longue, plus le pourcentage de risque de fonte de la cornée est élevé, comme le montre la durée moyenne de suivi de moins d'un an (1,7 %). Dans le même temps, les suivis de 1 à 2 mois et de 1 à 2 ans présentaient respectivement 7 % et 11 % de risque de fonte de la cornée.

La prise en charge de la fonte de la cornée varie en fonction de la gravité de la fonte observée. Les cas mineurs nécessitent une prise en charge conservatrice et les cas graves un remplacement complet de la prothèse<sup>128</sup>.

Les cellules souches épithéliales limniques (CSEL) ont été cultivées avec succès sur des hydrogels de collagène humain recombinant de type I (RHCI)<sup>129</sup>. Les CSEL situées à la jonction de la sclérotique et de la cornée sont responsables de la régénération des cellules épithéliales de la cornée et empêchent également l'invasion par les cellules épithéliales conjonctivales<sup>130</sup>. Un déficit sévère en cellules souches limniques nécessite des allogreffes de cellules souches kéra-toliminales et limniques, mais celles-ci ont un faible taux de survie et nécessitent généralement une immunosuppression post-chirurgicale<sup>131, 132</sup>. Une étude a montré que les hydrogels cultivés par les CSEL étaient biocompatibles, présentaient des caractéristiques optiques prometteuses, une résistance microbienne comparative et une génération de greffons composites réussie<sup>129</sup>. En outre, il a été démontré que les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) dérivées du stroma cornéen humain se cultivaient avec succès sur des échafaudages d'hydrogel à base de collagène porcin<sup>133</sup>.

En 2020, McTiernan et coll. ont présenté la cornée LiQD. La cornée LiQD est constituée de peptides courts de type collagène conjugués à du PEG, qui sont fonctionnellement similaires aux implants RHCIII<sup>134</sup>. Du fibrinogène a également été ajouté pour servir d'adhésif naturel. La cornée LiQD est liquide à des températures supérieures à 37 °C et se solidifie en gel à des températures inférieures. Elle peut donc être utilisée comme scellant ou comme alternative aux greffes de cornée.

Une étude de 12 mois menée sur des porcs a montré que la cornée était capable de se régénérer et qu'un risque réduit d'allergie ou de réaction immunitaire était observé pour les greffes de cornée traditionnelles ou les matériaux xénogéniques. Cependant, tous les porcs ayant reçu l'implant présentaient un voile cornéen et une néovascularisation après l'opération<sup>134</sup>. La transplantation de cornées de donneurs est la pierre angulaire du traitement de la cécité cornéenne, mais une grave pénurie mondiale nécessite le développement d'autres options thérapeutiques. La perforation de la cornée due à une infection ou à une inflammation est scellée avec de la colle cyanoacrylate. Cependant, la cytotoxicité qui en résulte nécessite une transplantation. LiQD Cornea est une solution de rechange à la transplantation de cornée conventionnelle et aux produits d'étanchéité. Il s'agit d'une matrice d'hydrogel liquide sans cellules pour la régénération de la cornée, composée de peptides courts semblables au collagène conjugués à du polyéthylène glycol et mélangés à du fibrinogène pour favoriser l'adhésion au sein des défauts tissulaires. La gélification se produit spontanément à la température du corps en 5 minutes. Une exposition à la lumière n'est pas nécessaire, ce qui est particulièrement avantageux, car les patients souffrant d'une inflammation de la cornée sont généralement photophobes. L'analogue de collagène synthétique autoassemblé et entièrement défini est beaucoup moins coûteux que le collagène recombinant humain et réduit le risque de rejet immunitaire associé aux matériaux xénogéniques. La gélification in situ permet potentiellement une application clinique dans les cliniques ambulatoires plutôt que dans les salles d'opération, ce qui maximise l'aspect pratique et réduit le coût des soins de santé<sup>135</sup>.

La gélatine, une forme dénaturée du collagène, peut également être utilisée pour construire des membranes pour les cellules de la cornée<sup>134</sup>. Elle est plus prédisposée à la biodégradation et à l'absorption que le collagène lui-même. La gélatine peut être réticulée par voie déshydrothermique ou chimique à l'aide d'EDC ou de glutaraldéhyde (GA). Mimura et coll. ont réticulé un hydrogel de gélatine avec du GA et ont constaté que l'hydrogel était capable de soutenir la croissance et le maintien de fibroblastes de lapin cultivés pendant 4 semaines<sup>136</sup>.

Plusieurs matériaux autres que le collagène ou la gélatine, tels que la soie et le chitosane, sont actuellement étudiés pour former des substituts cornéens avec un certain succès<sup>137</sup>. Ce domaine de recherche en constante expansion a le potentiel de former à l'avenir des substituts biomimétiques de la cornée de pleine épaisseur<sup>138</sup>.

## Cornées décellularisées

Les cornées décellularisées sont l'une des formes les plus prometteuses de reproduction de la structure et de la fonction complexes des cornées réelles<sup>139</sup>. La décellularisation est un processus par lequel les cellules d'organes ou de tissus de mammifères sont retirées pour former un échafaudage dépourvu de cellules et dont l'intégrité de la MEC est intacte. Bien que les hydrogels dérivés de composants de la MEC tels que le collagène imitent la MEC de la cornée, ils peuvent manquer de son organisation fibrillaire<sup>138</sup> et donc de la résistance à la traction que la structure lamellaire du collagène confère au stroma.

Les cornées décellularisées imitent à la fois l'architecture des fibrilles et la composition de la cornée et constituent donc une option très attrayante. C'est la structure architecturale organisée et complexe des fibrilles de collagène stromales de la cornée qui permet d'obtenir les propriétés biomécaniques appropriées de la cornée.

Les fibrilles de collagène de la partie antérieure de la cornée sont plus isotropes et permettent ainsi de mieux supporter la PIO et de maintenir la courbure de la cornée. Ici, des structures semblables à des ressorts s'étendent dans des fibrilles plus profondes<sup>140</sup>. En périphérie, les fibrilles sont orientées de façon circonférentielle, plus compactes et le diamètre des fibrilles augmente avec le collagène de la sclère qui fusionne pour renforcer le limbe, stabiliser la courbure de la cornée et maintenir ses propriétés de réfraction<sup>141</sup>. Les fibrilles plus grandes et plus larges de la cornée postérieure et leur disposition orthogonale, ainsi que celles de la cornée centrale, renforcent la résistance aux tensions exercées par les muscles extraoculaires. Les faisceaux plus étroits du stroma postérieur sont dirigés vers les quatre muscles grands droits. Cette structure complexe de collagène est maintenue par des protéoglycanes et des glycosaminoglycanes. Les cornées décellularisées sont une source prometteuse pour l'ingénierie du tissu cornéen, car elles conservent cette structure complexe de collagène cornéen<sup>140-142</sup>.

Le processus de décellularisation commence par l'isolement du tissu du donneur, suivi de l'élimination des cellules. De nouvelles cellules saines peuvent ensuite être ajoutées pour augmenter la biointégration et, enfin, la cornée est implantée dans le patient<sup>139</sup>. La décellularisation peut être réalisée à l'aide d'agents physiques (cycle de congélation-décongélation, pression hydrostatique élevée, électrophorèse, CO<sup>2</sup> supercritique), chimiques (Triton X-100, dodécyl sulfate de sodium, acide formique, éthanol) et/ou biologiques (trypsine, phospholipase A2, Dispase® II). La décellularisation vise à éliminer de la cornée tous les complexes majeurs d'incompatibilité afin d'éviter une réponse immunitaire et donc un rejet une fois transplantée chez le receveur<sup>143</sup>. Il a été démontré qu'une décellularisation inefficace entraîne le passage des macrophages à leur phénotype M1 pro-inflammatoire in vivo et in vitro<sup>142</sup>. En outre, la décellularisation peut exposer de nouveaux sites antigéniques en raison de la déformation des fibrilles de collagène, ce qui peut entraîner le rejet du greffon<sup>143</sup>. En outre, le processus de décellularisation réduit souvent de manière significative la teneur en protéoglycanes. Cette réduction de la teneur en protéoglycanes diminue la capacité de rétention d'eau de ces constructions et compromet la bioactivité.

Les cornées porcines sont couramment utilisées pour les études de décellularisation, car elles sont faciles à obtenir et présentent des similitudes anatomiques avec la cornée humaine. Dans le cas des cellules porcines, la décellularisation est nécessaire pour éliminer les épitopes Galactose-alpha-1,3-galactose ( $\alpha$ -Gal) et acide N-glycolylneuraminique (Neu5Gc) qui sont extrêmement immunogènes pour les hôtes humains<sup>144</sup>. Des procédures de décellularisation sous-optimales conduisant à des réactions immunogènes sont probablement à l'origine de l'inflammation, de la néovascularisation et du rejet observés dans les premiers rapports cliniques d'implantation de cornées porcines acellulaires<sup>145</sup>.

Pour résoudre les problèmes potentiels de la transplantation xénogénique, une alternative potentielle consiste à générer d'abord des porcs « humanisés ». Pour développer des « porcs humanisés », il faut éliminer de multiples molécules de surface cellulaire xénoréactives et des rétrovirus endogènes porcins (PERV). La technique révolutionnaire d'édition de gènes CRISPR-Cas9 a été introduite pour obtenir des porcs avec des knockouts des gènes GGTA1, CMAH et  $\beta$ 4GalNT2 impliqués dans les glycanes de surface immunogènes<sup>146</sup>.

Les PERVS ont également été inactivés à l'aide de la même technique<sup>135</sup>, ce qui pourrait faire des cornées de porcs transgéniques une alternative non immunogène. Cependant, le processus est très coûteux par rapport à l'utilisation de cornées décellularisées provenant de porcs « normaux ».

Après décellularisation, ces matrices peuvent être peuplées de cellules humaines pour générer une greffe de cornée viable. Trois paramètres permettent d'établir que la décellularisation a eu lieu : la coloration pour vérifier l'absence de noyaux cellulaires intacts, la quantification de l'ADN double brin (ADNdb) et la détermination de la longueur maximale des restes d'ADN à l'aide de l'électrophorèse sur gel d'agarose. La difficulté de choisir la technique de décellularisation optimale réside dans le fait que les chercheurs ont obtenu des résultats différents en utilisant des techniques similaires. En outre, l'augmentation de l'efficacité de la décellularisation est associée à une augmentation des dommages causés à la MEC<sup>143</sup>.

La recellularisation de la cornée peut être réalisée à l'aide de cellules d'origines diverses, toutes associées à certains avantages et inconvénients. La cornée étant avasculaire, les cellules allogéniques peuvent être utilisées avec un risque réduit de rejet, à condition que le tissu implanté reste à l'abri du système immunitaire de l'hôte. La recellularisation des trois types de cellules, épithélium, stroma et endothélium, a été réalisée selon différentes approches<sup>147</sup>.

La recellularisation du stroma est possible en utilisant des cellules stromales autologues en prélevant une biopsie de l'œil non atteint. Si les deux yeux sont atteints, des CSM dérivées de l'adipeuse peuvent être activées pour produire des kératocytes<sup>148</sup>. Les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) cultivées sur des cornées humaines cadavériques ont produit des cellules ayant un phénotype similaire à celui des kératocytes.

Différents moyens d'obtenir la pénétration des cellules dans la structure fibrillaire épaisse et dense de la cornée ont été étudiés. Les kératocytes humainsensemencés directement à la surface de l'échafaudage ont donné lieu à des distributions ressemblant à celles des homologues humains. Dans un essai clinique de phase I, Ali del Barrio et coll. ont réussi à recellulariser des lamines de 120 Qm d'épaisseur à partir de cornées de donneurs en ensemençant des CSM autologues dérivées de l'adipeuse qui ont été implantées chez quatre patients<sup>149</sup>. Chaque patient a bénéficié d'une amélioration de l'AV et de l'AVCD. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes recellularisés et non recellularisés, remettant en question la nécessité d'ajouter des CSM dérivées de l'adipeuse, qui sont obtenues à partir d'une chirurgie de liposuction supplémentaire<sup>149</sup>.

Les injections de cellules dans le stroma peuvent endommager la structure fibrillaire du stroma<sup>143</sup>. La lyophilisation crée des pores qui permettent une meilleure pénétration des cellules<sup>150</sup>. Des bioréacteurs ont été utilisés pour maintenir la construction en suspension à l'aide d'un agitateur magnétique et empêcher les cellules de s'attacher à d'autres surfaces et de favoriser la colonisation de la structure. Ma et coll. ont ensemenché de fines feuilles de cornée porcine décellularisée avec des kératocytes pendant la transplantation. Des cellules ont été ajoutées à chaque feuille, créant une cornée recellularisée à 5 couches qui a ensuite été transplantée chez des lapins par kératoplastie lamellaire<sup>151</sup>.

La chirurgie utilisant ces feuilles recellularisées a été plus réussie et plus transparente que les chirurgies utilisant des tissus acellulaires dans le modèle.

La recellularisation épithéliale a été réalisée à l'aide de cellules souches limbiques isolées à partir d'une biopsie de l'œil non atteint<sup>152</sup>. Lorsque les deux yeux sont atteints, des cellules allogènes de la muqueuse buccale peuvent être utilisées<sup>153</sup>. Les CSPi pourraient également être utilisées comme source de cellules non autogènes en raison de leur capacité à se différencier en cellules épithéliales limbiques semblables à des cellules souches<sup>154</sup>. Xu et coll. ont rapporté la production d'une hémicornee antérieure en utilisant des stromas cornéens porcins acellulaires dans lesquels ont été injectés des cellules stromales et épithéliales cornéennes humaines<sup>155</sup>. Ces constructions ont été transfectées dans des yeux de chien par kératoplastie lamellaire et on a constaté qu'elles maintenaient la transparence, l'épaisseur et la composition de la cornée.

Certains rapports ont remis en question les mérites de la recellularisation, car aucune différence significative n'a été observée entre les cornées acellulaires et recellularisées<sup>149</sup>. Cependant, il s'agit d'un domaine en développement qui nécessite davantage d'études *in vivo* et d'essais cliniques pour évaluer les avantages possibles de la recellularisation. Néanmoins, les cornées décellularisées pourraient constituer une alternative potentielle à la cornée qui imite à la fois sa composition et son architecture fibrillaire.

## Impression 3D

L'impression 3D est devenue une méthode attrayante pour fabriquer un équivalent cornéen. Avec l'émergence de divers biomatériaux dans la bio-ingénierie de la cornée, des bio-encre et des encres peuvent être fabriquées pour imiter le micro-environnement de la cornée. Actuellement, l'accent est mis sur la reconstruction d'un équivalent stromal à l'aide de plusieurs méthodes, dont l'impression à jet d'encre, l'impression par extrusion et l'impression assistée par laser. Duarte Campos et coll.<sup>160</sup> ont bio-imprimé des kératocytes du stroma cornéen (CSK) dans des bio-encre à base de collagène pour former des équivalents stromaux. En théorie, la bio-impression 3D pourrait produire une cornée multicouche avec des cellules épithéliales, des kératocytes et des cellules endothéliales.

Isaacson et coll.<sup>157</sup> ont démontré la faisabilité de l'ingénierie d'une structure cornéenne artificielle à l'aide de la bio-impression 3D. En utilisant un modèle numérique 3D existant de cornée humaine et une bio-encre composite composée de collagène et d'alginate, qui contient des kératocytes cornéens encapsulés, des constructions 3D anatomiquement analogues à un modèle humain ont été produites<sup>157</sup>. Les kératocytes sont restés viables pendant 7 jours après l'impression. Cependant, l'activité métabolique et l'expression protéique des cellules kératinocytaires étaient faibles, ce qui pourrait être lié à la forte densité de réticulation de l'échafaudage bio-primé en 3D et à l'absence de géométrie incurvée.

Ulag et coll. ont imprimé en 3D une cornée adaptée à la transplantation en utilisant un moule en aluminium, nécessaire pour obtenir la forme correcte, et une construction en PVA-chitosane<sup>158</sup>. La microscopie électronique à balayage et la spectrométrie UV ont révélé des propriétés optiques favorables.

La résistance à la traction a pu supporter les fluctuations de la PIO et la structure est restée biocompatible avec les cellules souches après 30 jours de dégradation<sup>158</sup>.

En outre, les bio-encre à base de MEC cornéenne décellularisée peuvent être utilisées pour imiter la structure du stroma cornéen. Kim et coll. ont étudié les effets de la modification du diamètre de la buse et donc de la contrainte de cisaillement lorsque la bio-impression par extrusion a été utilisée pour bio-imprimer des kératocytes humains dans une bio-encre fabriquée à partir de MEC cornéenne décellularisée<sup>159</sup>. L'élargissement de la buse pour réduire la contrainte de cisaillement a entraîné l'apparition de fibrilles de collagène non alignées. Tout en donnant des fibrilles hautement structurées, la buse plus étroite et la contrainte de cisaillement plus élevée ont endommagé les kératocytes, activant ainsi les fibroblastes. Enfin, le diamètre optimal de la buse a produit une structure similaire au stroma cornéen humain natif avec des kératocytes viables<sup>159</sup>.

Sorkio et coll. ont produit un échafaudage contenant une couche stromale et une couche épithéliale en utilisant la bio-impression assistée par laser<sup>160</sup>. La couche épithéliale a été créée à l'aide d'une bio-encre contenant de la laminine recombinante humaine, de l'acide hyaluronique et des CSEL dérivées de cellules souches embryonnaires humaines.

La couche stromale a été imprimée avec une bio-encre composée de collagène de type 1, de plasma sanguin, de thrombine et de cellules souches dérivées de tissus adipeux humains. La structure imite le stroma de la cornée humaine et supporte une viabilité cellulaire élevée, mais l'échafaudage perd sa forme après quelques jours. En outre, la membrane de soutien ajoutée pour soutenir la couche stromale est devenue opaque, rendant la structure non fonctionnelle<sup>160</sup>.

Enfin, Kim et coll. ont bio-imprimé un échafaudage à l'aide d'une encre de gélatine dans laquelle des cellules endothéliales cornéennes humaines ont été incorporées. Ces cellules avaient été génétiquement modifiées pour exprimer la ribonucléase 5 (R5) qui augmente la prolifération des cellules endothéliales<sup>161</sup>. Les échafaudages ont montré une transparence et une viabilité cellulaire, et 4 semaines après la transplantation des structures 3D sur des cornées de lapin, ce groupe a montré une meilleure transparence que le groupe non imprimé<sup>161</sup>. Même si la majorité des recherches se concentrent sur la fabrication d'un équivalent stromal, la bio-impression 3D a le potentiel de former un modèle de cornée multicouche de pleine épaisseur à l'avenir. 

• • • • •

## RÉFÉRENCES

94. Farid M, Sabeti S, Minckler DS. Histopathological study of an explanted novel artificial corneal device. *Cornea*. (2020) 39:915-8. doi: 10.1097/ICO.0000000000002261
95. Duncker GIW, Storsberg J, Moller-Lierheim WGK. The fully synthetic, bio-coated MIRO® CORNEA UR keratoprosthesis: development, preclinical testing, and first clinical results. *Spektrum Augenheilkd*. (2014) 28:250-60. doi: 10.1007/s00717-014-0243-4
96. Hollick EJ, Watson SL, Dart JK, Luthert PJ, Allan BD. Legeais BioKpro III keratoprosthesis implantation: long term results in seven patients. *Br J Ophthalmol*. (2006) 90:1146-51. doi: 10.1136/bjo.2006.092510
97. Hicks CR, Crawford GJ, Dart JK, Grabner G, Holland EJ, Stulting RD, et coll. AlphaCor: clinical outcomes. *Cornea*. (2006) 25:1034-42. doi: 10.1097/O1.icc.0000229982.23334.6b
98. Jiraskova N, Rozsival P, Burova M, Kalfertova M. AlphaCor artificial cornea: clinical outcome. *Eye (Lond)*. (2011) 25:1138-46. doi: 10.1038/eye.2011.122
99. Kim MK, Lee JL, Wee WR, Lee JH. Seoul-type keratoprosthesis: preliminary results of the first 7 human cases. *Arch Ophthalmol*. (2002) 120:761-6. doi: 10.1001/archophth.120.6.761
100. Lee JH, Wee WR, Chung ES, Kim HY, Park SH, Kim YH. Development of a newly designed double-fixed Seoul-type keratoprosthesis. *Arch Ophthalmol*. (2000) 118:1673-8. doi: 10.1001/archophth.118.12.1673
101. Chirila TV. An overview of the development of artificial corneas with porous skirts and the use of PHEMA for such an application. *Biomaterials*. (2001) 22:3311-7. doi: 10.1016/S0142-9612(01)00168-5
102. Hicks CR, Crawford GJ, Lou X, Tan DT, Snibson GR, Sutton G, et coll. Corneal replacement using a synthetic hydrogel cornea, AlphaCor: device, preliminary outcomes and complications. *Eye (Lond)*. (2003) 17:385-92. doi: 10.1038/sj.eye.6700333
103. Crawford GJ. The development and results of an artificial cornea: AlphaCor™. In: Chirila TV, Harkin DG, editors. *Biomaterials and Regenerative Medicine in Ophthalmology*. 2nd ed. Woodhead Publishing (2016). p. 443-62.
104. Hicks C, Crawford G, Chirila T, Wiffen S, Vijayasekaran S, Lou X, et coll. Development and clinical assessment of an artificial cornea. *Prog Retin Eye Res*. (2000) 19:149-70. doi: 10.1016/S1350-9462(99)00013-0
105. Crawford GJ, Hicks CR, Lou X, Vijayasekaran S, Tan D, Mulholland B, et coll. The Chirila Keratoprosthesis: phase I human clinical trial. *Ophthalmology*. (2002) 109:883-9. doi: 10.1016/S0161-6420(02)00958-2
106. Xiang J, Sun J, Hong J, Wang W, Wei A, Le Q, et coll. T-style keratoprosthesis based on surface-modified poly (2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel for cornea repairs. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. (2015) 50:274-85. doi: 10.1016/j.msec.2015.01.089
107. Hicks CR, Chirila TV, Werner L, Crawford GJ, Apple DJ, Constable IJ. Deposits in artificial corneas: risk factors and prevention. *Clin Exp Ophthalmol*. (2004) 32:185-91. doi: 10.1111/j.1442-9071.2004.00781.x
108. Ngakeng V, Hauck MJ, Price MO, Price FW Jr. AlphaCor keratoprosthesis: a novel approach to minimize the risks of long-term postoperative complications. *Cornea*. (2008) 27:905-10. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181705cbc
109. Corneat, Kpro|Synthetic Cornea-Revolutionary Innovation in Corneal Replacement Therapy: Corneat Vision. Available online at: [https://92eabc15-6bb4-42ef-8bfc7443168a4e2.filesusr.com/ugd/cd910f\\_8fa896afce4e4234993f5c576590bed4.pdf](https://92eabc15-6bb4-42ef-8bfc7443168a4e2.filesusr.com/ugd/cd910f_8fa896afce4e4234993f5c576590bed4.pdf)
110. About EyeYon Medical: EyeYon Mediccoll. Available online at: <https://eye-yon.com/about>
111. Brunette I, Roberts CJ, Vidal F, Harissi-Dagher M, Lachaine J, Sheardown H, et coll. Alternatives to eye bank native tissue for corneal stromal replacement. *Prog Retin Eye Res*. (2017) 59:97-130. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.04.002
112. Chen Z, You J, Liu X, Cooper S, Hodge C, Sutton G, et coll. Biomaterials for corneal bioengineering. *Biomed Mater*. (2018) 13:032002. doi: 10.1088/1748-605X/aa92d2
113. Griffith M, Poudel BK, Malhotra K, Akla N, González-Andrades M, Courtman D, et coll. Biosynthetic alternatives for corneal transplant surgery. *Expert Rev Ophthalmol*. (2020) 15:129-43. doi: 10.1080/17469899.2020.1754798

114. Mi S, Chen B, Wright B, Connon CJ. Plastic compression of a collagen gel forms a much improved scaffold for ocular surface tissue engineering over conventional collagen gels. *J Biomed Mater Res A*. (2010) 95:447-53. doi: 10.1002/jbm.a.32861
115. Li F, Carlsson D, Lohmann C, Suuronen E, Vascotto S, Kobuch K, et coll. Cellular and nerve regeneration within a biosynthetic extracellular matrix for corneal transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*. (2003) 100:15346-51. doi: 10.1073/pnas.2536767100
116. Fagerholm P, Lagali NS, Merrett K, Jackson WB, Munger R, Liu Y, et coll. A biosynthetic alternative to human donor tissue for inducing corneal regeneration: 24-month follow-up of a phase 1 clinical study. *Sci Transl Med*. (2010) 2:46ra61. doi: 10.1126/scitranslmed.3001022
117. Fagerholm P, Lagali NS, Ong JA, Merrett K, Jackson WB, Polarek JW, et coll. Stable corneal regeneration four years after implantation of a cell-free recombinant human collagen scaffold. *Biomaterials*. (2014) 35:2420-7. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.079
118. Hackett JM, Lagali N, Merrett K, Edelhofer H, Sun Y, Gan L, et coll. Biosynthetic corneal implants for replacement of pathologic corneal tissue: performance in a controlled rabbit alkali burn model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2011) 52:651-7. doi: 10.1167/iovs.10-5224
119. Buznyk O, Pasyechnikova N, Islam MM, Iakymenko S, Fagerholm P, Griffith M. Bioengineered corneas grafted as alternatives to human donor corneas in three high-risk patients. *Clin Transl Sci*. (2015) 8:558-62. doi: 10.1111/cts.12293
120. Islam MM, Buznyk O, Reddy JC, Pasyechnikova N, Alarcon EI, Hayes S, et coll. Biomaterials-enabled cornea regeneration in patients at high risk for rejection of donor tissue transplantation. *NPJ Regen Med*. (2018) 3:2. doi: 10.1038/s41536-017-0038-8
121. Buznyk O, Azharuddin M, Islam MM, Fagerholm P, Pasyechnikova N, Patra HK. Collagen-based scaffolds with infused anti-VEGF release system as potential cornea substitute for high-risk keratoplasty: a preliminary in vitro evaluation. *Heliyon*. (2020) 6:e05105. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05105
122. Xeroudaki M, Thangavelu M, Lennikov A, Ratnayake A, Bisevac J, Petrovski G, et coll. A porous collagen-based hydrogel and implantation method for corneal stromal regeneration and sustained local drug delivery. *Sci Rep*. (2020) 10:16936. doi: 10.1038/s41598-020-73730-9
123. <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/19/4017>
124. Jirásková N, Rozsival P, Burova M, Kalfertova M. AlphaCor artificial cornea: clinical outcome. *Eye (Lond)*. 2011 Sep;25(9):1138-46. doi: 10.1038/eye.2011.122. Epub 2011 Jun 17. PMID: 21681219; PMCID: PMC3178235.
125. Hicks CR, Crawford GJ, Tan DT, et coll. AlphaCor cases: comparative outcomes. *Cornea*. 2003 Oct;22(7):583-90. doi: 10.1097/00003226-200310000-00001. PMID: 14508253.
126. Tan A, Tan DT, Tan XW, Mehta JS. Osteo-odonto Keratoprosthesis: Systematic Review of Surgical Outcomes and Complication Rates. *Ocul Surf*. 2012;10(1):15-25. doi:https://doi.org/10.1016/j.jtos.2012.01.003
127. Sayegh RR, Ang LPK, Foster CS, Dohlman CH. The Boston Keratoprosthesis in Stevens-Johnson Syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(3), 2008:438-444.
128. Robert MC, Dohlman CH. A Review of Corneal Melting after Boston Keratoprosthesis. *Sem Ophthalmol*. 2014;29(5-6):349-57. doi:10.3109/08820538.2014.959186.
129. Haagdorens M, Liszka A, Ljunggren M, Fagerholm P, Valiokas R, Cepla V, et coll. Recombinant human collagen type I hydrogels as superior cell carriers for corneal epithelial stem cells and corneal transplantation. *Investig Ophthalmol Visual Sci*. (2019) 60:4139.
130. Atallah MR, Palioura S, Perez VL, Amescua G. Limbal stem cell transplantation: current perspectives. *Clin Ophthalmol*. (2016) 10:593-602. doi: 10.2147/OPHT. S83676
131. Ilari L, Daya SM. Long-term outcomes of keratolimbal allograft for the treatment of severe ocular surface disorders. *Ophthalmology*. (2002) 109:1278-84. doi: 10.1016/S0161-6420(02)01081-3
132. Solomon A, Ellies P, Anderson DF, Touhami A, Grueterich M, Espana EM, et coll. Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology*. (2002) 109:1159-66. doi: 10.1016/S0161-6420(02)00960-0
133. Koulikovska M, Rafat M, Petrovski G, Vereb Z, Akhtar S, Fagerholm P, et coll. Enhanced regeneration of corneal tissue via a bioengineered collagen construct implanted by a nondisruptive surgical technique. *Tissue Eng Part A*. (2015) 21:1116-30. doi: 10.1089/ten.tea.2014.0562
134. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aba2187>
135. McTiernan CD, Simpson FC, Haagdorens M, Samarawickrama C, Hunter D, Buznyk O, et coll. LiQD Cornea: pro-regeneration collagen mimetics as patches and alternatives to corneal transplantation. *Sci Adv*. (2020) 6:eaba2187. doi: 10.1126/sciadv.aba2187
136. Mimura T, Amano S, Yokoo S, Uchida S, Yamagami S, Usui T, et coll. Tissue engineering of corneal stroma with rabbit fibroblast precursors and gelatin hydrogels. *Mol Vis*. (2008) 14:1819-28. Available online at: <http://www.molvis.org/molvis/v14/a215/>
137. Ahearne M, Fernández-Pérez J, Masterton S, Madden PW, Bhattacharjee P. Designing scaffolds for corneal regeneration. *Adv Funct Mat*. (2020) 30:996. doi: 10.1002/adfm.201908996
138. 128. McTiernan CD, Simpson FC, Haagdorens M, Samarawickrama C, Hunter D, Buznyk O, et al. LiQD Cornea: pro-regeneration collagen mimetics as patches and alternatives to corneal transplantation. *Sci Adv*. (2020) 6:eaba2187. doi: 10.1126/sciadv.aba2187
139. Fernandez-Perez J, Ahearne M. Decellularisation and Recellularisation of cornea: progress towards a donor alternative. *Methods*. (2020) 171:86-96. doi: 10.1016/j.ymeth.2019.05.009
140. Zhou HY, Cao Y, Wu J, Zhang WS. Role of corneal collagen fibrils in corneal disorders and related pathological conditions. *Int J Ophthalmol*. (2017) 10:803-11. doi: 10.18240/ijo.2017.05.24
141. Boote C, Kamma-Lorger CS, Hayes S, Harris J, Burghammer M, Hiller J, et coll. Quantification of collagen organization in the peripheral human cornea at micron-scale resolution. *Biophys J*. (2011) 101:33-42. doi: 10.1016/j.bpj.2011.05.029
142. Keane TJ, Londono R, Turner NJ, Badylak SF. Consequences of ineffective Decellularisation of biologic scaffolds on the host response. *Biomaterials*. (2012) 33:1771-81. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.054
143. Chakraborty J, Roy S, Murab S, Ravani R, Kaur K, Devi S, et coll. Modulation of macrophage phenotype, maturation, and graft integration through chondroitin sulfate cross-linking to decellularised cornea. *ACS Biomater Sci Eng*. (2019) 5:165-79. doi: 10.1021/acsbomaterials.8b00251
144. Yoon CH, Choi HJ, Kim MK. Corneal xenotransplantation: where are we standing? *Prog Retin Eye Res*. (2021) 80:100876. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100876
145. Lagali N. Corneal stromal regeneration: current status and future therapeutic potential. *Curr Eye Res*. (2020) 45:278-90. doi: 10.1080/02713683.2019.1663874
146. Wang RG, Ruan M, Zhang RJ, Chen L, Li XX, Fang B, et coll. Antigenicity of tissues and organs from GGTA1/CMAH/beta4GalNT2 triple gene knockout pigs. *J Biomed Res*. (2018) 33:235-43. doi: 10.7555/JBR.32.20180018
147. Niu D, Wei HJ, Lin L, George H, Wang T, Lee IH, et coll. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science*. (2017) 357:1303-7. doi: 10.1126/science.aan4187

## RÉFÉRENCES

148. Naylor RW, McGhee CN, Cowan CA, Davidson AJ, Holm TM, Sherwin T. Derivation of corneal keratocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells. *PLoS ONE*. (2016) 11:e0165464. doi: 10.1371/journal.pone.0165464
149. Alio Del Barrio JL, El Zarif M, Azaar A, Makdissy N, Khalil C, Harb W, et coll. Corneal stroma enhancement with decellularised stromal laminas with or without stem cell Recellularisation for advanced keratoconus. *Am J Ophthalmol*. (2018) 186:47-58. doi: 10.1016/j.ajo.2017.10.026
150. Pang K, Du L, Wu X. A rabbit anterior cornea replacement derived from acellular porcine cornea matrix, epithelial cells and keratocytes. *Biomaterials*. (2010) 31:7257-65. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.066
151. Ma XY, Zhang Y, Zhu D, Lu Y, Zhou G, Liu W, et coll. Corneal stroma regeneration with acellular corneal stroma sheets and keratocytes in a rabbit model. *PLoS ONE*. (2015) 10:e0132705. doi: 10.1371/journal.pone.0132705
152. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. (2010) 363:147-55. doi: 10.1056/NEJMoa0905955
153. Kolli S, Ahmad S, Mudhar HS, Meeny A, Lako M, Figueiredo FC. Successful application of ex vivo expanded human autologous oral mucosal epithelium for the treatment of total bilateral limbal stem cell deficiency. *Stem Cells*. (2014) 32:2135-46. doi: 10.1002/stem.1694
154. Mikhailova A, Ilmarinen T, Uusitalo H, Skottman H. Small-molecule induction promotes corneal epithelial cell differentiation from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*. (2014) 2:219-31. doi: 10.1016/j.stemcr.2013.12.014
155. Xu B, Song Z, Fan T. Construction of anterior hemi-corneal equivalents using nontransfected human corneal cells and transplantation in dog models. *Artif Organs*. (2017) 41:1004-16. doi: 10.1111/aor.12878
156. Duarte Campos DF, Rohde M, Ross M, Anvari P, Blaeser A, Vogt M, et coll. Corneal bioprinting utilizing collagen-based bioinks and primary human keratocytes. *J Biomed Mater Res A*. (2019) 107:1945-53. doi: 10.1002/jbm.a.36702
157. Isaacson A, Swioklo S, Connon CJ. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalent. *Exp Eye Res*. (2018) 173:188-93. doi: 10.1016/j.exer.2018.05.010
158. Ulag S, Ilhan E, Sahin A, Karademir Yilmaz B, Kalaskar DM, Ekren N, et coll. 3D printed artificial cornea for corneal stromal transplantation. *Eur Polymer J*. (2020) 133:109744. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109744
159. Kim H, Jang J, Park J, Lee KP, Lee S, Lee DM, et coll. Shear-induced alignment of collagen fibrils using 3D cell printing for corneal stroma tissue engineering. *Biofabrication*. (2019) 11:035017. doi: 10.1088/1758-5090/ab1a8b
160. Sorkio A, Koch L, Koivusalo L, Deiwick A, Miettinen S, Chichkov B, et coll. Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks. *Biomaterials*. (2018) 171:57-71. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.034
161. Kim KW, Lee SJ, Park SH, Kim JC. Ex vivo functionality of 3D bioprinted corneal endothelium engineered with ribonuclease 5-overexpressing human corneal endothelial cells. *Adv Healthc Mater*. (2018) 7:e1800398. doi: 10.1002/adhm.201800398

## Transformez votre équipe avec une formation en assistance optométrique.

Offre spéciale pour les lève-tôt



**Meilleure compréhension:**  
Valorisez le rôle clé de votre personnel dans la qualité des soins oculaires.

**Amélioration de la productivité:**  
Stimulez la performance de votre équipe.

**Avancement de carrière:** Offrez à vos employé.e.s de nouvelles compétences et opportunités.

**ENGAGEZ. VALORISEZ. SOIGNEZ MIEUX.**

Inscriptions:  
**28 juillet – 31 août 2025**



**Relations avec la clientèle:** Créez une équipe offrant une expérience exceptionnelle.

**Formation complète:** Offrez une formation à la fois pratique et théorique pour maximiser les compétences.

**Accès exclusif:** Offres et opportunités de formation continue pour votre personnel.



opto.ca/fr/aocc



613-235-7924  
888-263-4676



cco@opto.ca



Ce programme est offert exclusivement aux employé.e.s des membres de l'ACO