

**RELAZIONE FINALE DEL PROGETTO “NUOVE STRATEGIE PER IL
TRAPIANTO DI CORNEA” FINANZIATO CON I FONDI 5X1000 DEL MUR
PER L'ANNO FINANZIARIO 2022**

INTRODUZIONE

Nell'ultimo decennio, il trapianto di cornea, un intervento chirurgico per ripristinare la vista nelle persone con disturbi corneali, è notevolmente cambiato e la cheratoplastica perforante è stata sostituita da approcci mirati alla sostituzione del solo strato corneale patologico. Tali approcci sono complessivamente chiamati di cheratoplastica lamellare. La cheratoplastica lamellare ha rivoluzionato il mondo dei trapianti di cornea, consentendo ai chirurghi di trapiantare solo la porzione patologica della cornea, riducendo il tempo necessario per l'intervento in sala operatoria e permettendo al paziente un recupero visivo più rapido.

Il successo del trapianto di cornea dipende però fortemente dalla disponibilità di tessuti corneali idonei e dalla presenza di banche degli occhi in grado di conservarle e garantirne la sicurezza. Le banche degli occhi hanno svolto un ruolo cruciale nel ridurre le liste d'attesa per il trapianto di cornea in molti paesi europei e negli Stati Uniti. Nonostante ciò però, la domanda di cornee per trapianto supera di gran lunga l'offerta. Le statistiche mondiali indicano che è disponibile solo una cornea ogni 70 persone che ne hanno bisogno. Questa grave carenza rende necessario lo sviluppo di nuove tecnologie e approcci per aumentare la disponibilità di cornee da trapiantare. Tuttavia, sarà fondamentale dare priorità alle considerazioni sulla sicurezza. Poiché il trapianto di cornea non è un intervento salvavita, garantire la sicurezza del tessuto da trapiantare è di importanza fondamentale per salvaguardare il benessere del paziente e ridurre al minimo la possibilità di eventi avversi.

SCOPO DEL PROGETTO

Scopo del progetto è la messa a punto di nuove metodologie e/o strategie per migliorare il trapianto di cornea e consentire ai chirurghi, e quindi ai pazienti, un accesso a più tessuti da utilizzare in sala operatoria, in modo tale da colmare il divario tra domanda e offerta.

RISULTATI

Nel corso dell'anno ci siamo focalizzati principalmente sullo svolgimento di uno delle 3 tematiche previste dal piano progettuale presentato.

Abbiamo quindi:

1. Verificato la possibilità di preparare uno scaffold costituito da un anello corneo-sclerale in cui una porzione di membrana pre-descemetica (PD) di circa 5 mm di diametro deve essere separata dal resto dello stroma corneale;
2. Preparato uno scaffold costituito da un anello corneo-sclerale al quale viene rimossa la membrana di Descemet ed endotelio;
3. Verificato lo spessore e la trasparenza della PD dei tessuti preparati;
4. Verificato la possibilità di conservazione mediante disidratazione dei tessuti preparati, monitorandone i cambiamenti di trasparenza e spessore dopo successiva reidratazione dei lembi.

Sono stati utilizzati 3 diversi gruppi di tessuti (gruppi G1, G2 e G3). Tutti i tessuti sono stati analizzati utilizzando un "transparency device" ottenendo la media e la deviazione standard della trasparenza in ciascun time-point. Il valore è stato espresso in percentuale (%) dove 100 rappresenta la trasparenza assoluta. I tessuti del gruppo G1, appena eseguita la lavorazione (T0) avevano fatto registrare una trasparenza media di circa il 72% che, dopo una settimana di conservazione, migliora fino a mantenere una trasparenza che varia fra il 74 e 84 % durante i mesi di conservazione. La deviazione standard risulta elevata ($\pm 12,63\%$) a causa della variabilità di diametro della PD isolata su ciascun tessuto. Infatti è stata osservata una correlazione fra trasparenza e diametro, tanto più il diametro è ampio tanto più la trasparenza rilevata aumenta. Partendo da un diametro di circa 4 mm è stata osservata una trasparenza del 50,56% mentre con 7,56 mm si ottiene una trasparenza del 88,87%. Nonostante l'assenza di endotelio con la sua azione di pompa Na/K e la mancanza di agenti de-turgescenti nel liquido di conservazione, la membrana di pre-descemet ha mantenuto la sua trasparenza durante tutto l'arco della conservazione. La ridotta quantità di fibre di collagene di cui è composta la PD, potrebbe determinare la scarsa capacità di assorbimento di liquidi (edema) e di conseguenza giocare un ruolo importante nel mantenimento della trasparenza.

Anche lo spessore della PD ottenuto attraverso rilevamenti con AS-OCT non ha mostrato cambiamenti significativi ($P=0,909782$) durante il periodo di conservazione mantenendo un valore medio di $36,02\pm 4,44$ μm . Il valore ottenuto differisce da quanto riportato in letteratura, mediamente di 10 μm [Dua, Harminder S et al. "The pre-Descemet's layer (Dua's layer, also known as the Dua-Fine layer and the pre-posterior limiting lamina layer): Discovery, characterisation, clinical and surgical applications, and the controversy." *Progress in retinal and eye research vol. 97 (2023): 101161. doi:10.1016/j.preteyeres.2022.101161*], ma tale differenza potrebbe essere determinata da una insufficiente risoluzione dell'AS-OCT utilizzato, in quanto possiede una risoluzione assiale e trasversale rispettivamente di 10 e 30 μm .

Se paragonato ai tessuti del gruppo 2 ($n=3$), in cui sono stati lasciati degli strati di stroma adesi alla PD (99, 122 e 158 μm), è stata osservato che lo spessore medio aumentano di circa il 70 % già dopo 7 giorni di conservazione, da T0 a T7 per poi stabilizzarsi fino alla fine della conservazione, T360.

All'aumentare dello spessore è stata evidenziata una diminuzione della trasparenza che è rimasta costante durante tutto il periodo di conservazione. La trasparenza media dei tessuti del gruppo 1 e 2 è stata rispettivamente del $77,85\pm 12,63\%$ e $51,46\pm 6,05\%$. Ciò indicherebbe che, un aumento di spessore medio di 90 μm di stroma adeso alla PD indurrebbe una diminuzione della trasparenza di circa il 26%. Nel gruppo 3, sono stati preparati tre tessuti ($n=3$) come nel G1, ma anziché essere conservati in liquido di conservazione, sono stati disidratati e conservati in frigorifero a 4°C. Ad ogni time-point i tessuti sono stati valutati sia nella forma disidratata sia dopo un periodo di idratazione con PBS per circa 15 minuti. Mediamente nel corso della conservazione, le PD hanno mantenuto un grado di trasparenza costante in entrambe le configurazioni, $80,28\pm 10,88$ % nei tessuti idratati e $83,62\pm 5,05$ nella forma disidratata. Come per il primo gruppo, è stato osservato che la variabilità dei valori è legata al diametro di PD ottenuto. Nella forma idratata, con un diametro di 4,37 mm, la trasparenza riscontrata era del $69,30\pm 8,39$ %, in linea con quanto osservato nel gruppo 1. Nella forma disidratata invece la trasparenza riscontrata era costantemente più elevata, $81,74\pm 4,97\%$; la irregolarità della superficie della membrana in questa particolare condizione potrebbe in qualche modo alterare la luce, facendola convogliare verso il rilevatore dello strumento e simulando un grado di trasparenza più elevato. Non ci sono però differenze significative tra forma disidratata e idratata negli altri due campioni esaminati.

Complessivamente, la trasparenza dei tessuti dei gruppi 1 e 3 sono sovrapponibili e le successive fasi di idratazione e disidratazione non sembrano influenzare la trasparenza dei tessuti valutati. Anche la media

degli spessori osservati durante la conservazione risulta sovrapponibili, $26,91 \pm 3,79 \mu\text{m}$ nella forma disidratata e $29,75 \pm 4,37 \mu\text{m}$ in quella idratata, ma che risultano inferiori rispetto a quanto riscontrato negli spessori dei tessuti del gruppo 1, $36,02 \pm 4,44 \mu\text{m}$. I cicli di disidratazione potrebbero in qualche modo alterare la capacità di assorbimento di liquidi da parte degli strati di collagene, forse a causa di un deterioramento della sostanza amorfa (glucosamminoglicani) presente nelle fibre di collagene.

CONCLUSIONI

Questi risultati, seppur preliminari, consentirebbero alle banche degli occhi di distribuire un nuovo tipo di tessuto ossia una cornea ibrida costituita da cornea proveniente da un donatore con una lente di plastica artificiale al centro, superando quindi i difetti incontrati con altri dispositivi quali, per esempio, la Boston Keratoprosthesis. Questo approccio innovativo mira ad ampliare le opzioni di trattamento per i pazienti non idonei al trapianto corneale tradizionale, come per esempio quelli affetti da Aniridia.

Il progetto di ricerca è finanziato anche con il contributo 5xMille A.F. 2022 Enti della Ricerca Sanitaria (Ministero della Salute).