

**RIPOPOLAMENTO  
CHERATOCITARIO  
NELLE CHERATOPLASTICHE  
LAMELLARI ANTERIORI**

Napoli, 23 Aprile 2016

**Paola Bonci**  
**Banca delle Cornee di Imola**

Abstract Send to: 

*Cornea*. 2015 Sep;34(9):1044-51. doi: 10.1097/ICO.0000000000000536.

## Long-Term Dehydrated Donor Lamella Survival in Anterior Keratoplasty: Keratocyte Migration and Repopulation of Corneal Stroma.

[Russo A<sup>1</sup>](#), [Bonci P](#), [Leonetti P](#), [Cortecchia S](#), [Nannini R](#), [Bonci P](#).

### Author information

#### Abstract

**PURPOSE:** The aim of this study was to investigate the ability of host keratocytes to colonize the donor lamella transplanted without viable cells (dehydrated) in Descemetic (deep anterior lamellar keratoplasty) and in pre-Descemetic keratoplasty (excimer laser-assisted lamellar keratoplasty).

**METHOD:** A total of 17 eyes (8 deep anterior lamellar keratoplasties and 9 excimer laser-assisted lamellar keratoplasties) were included in this observational retrospective study; patients underwent ophthalmic examinations, and histological staining was performed ex vivo on the graft in cases of failure.

**RESULTS:** In Descemetic keratoplasty, the long-term survival of the graft is compromised with the central corneal thickness decreasing; corneal pachymetry and in vivo and ex vivo keratocyte densities are significantly reduced (pachymetric reduction of -86  $\mu\text{m}$  in the apex and -87  $\mu\text{m}$  in the thinnest point; density cell reduction of 72% at a depth of 100  $\mu\text{m}$ , 62% at a depth of 250  $\mu\text{m}$ , and -66% at a depth of 400  $\mu\text{m}$ ). In pre-Descemetic keratoplasty, clinical complications, reduction of central thickness, or alterations of keratocyte density were not observed.

**CONCLUSIONS:** In Descemetic keratoplasty, the migration of the host peripheral keratocytes does not seem enough to repopulate the donor graft, whereas in pre-Descemetic keratoplasty, long-term survival of the graft is good. Keratocyte repopulation was observed only by extensive contact between the donor and host parenchyma.

# Cheratoplastica lamellare anteriore Descemetica con lamelle disidratate

Rimozione totale dello stroma ricevente per un diametro di 8.50 mm

Impianto di lamella corneale disidratata preparata presso la banca:

- Taglio con punch del lembo corneo sclerale (diametro 8.50 o 9.00 mm)
- Rimozione della membrana di Descemet
- Conservazione con Gel di Silicio a +4° C fino a 6 mesi



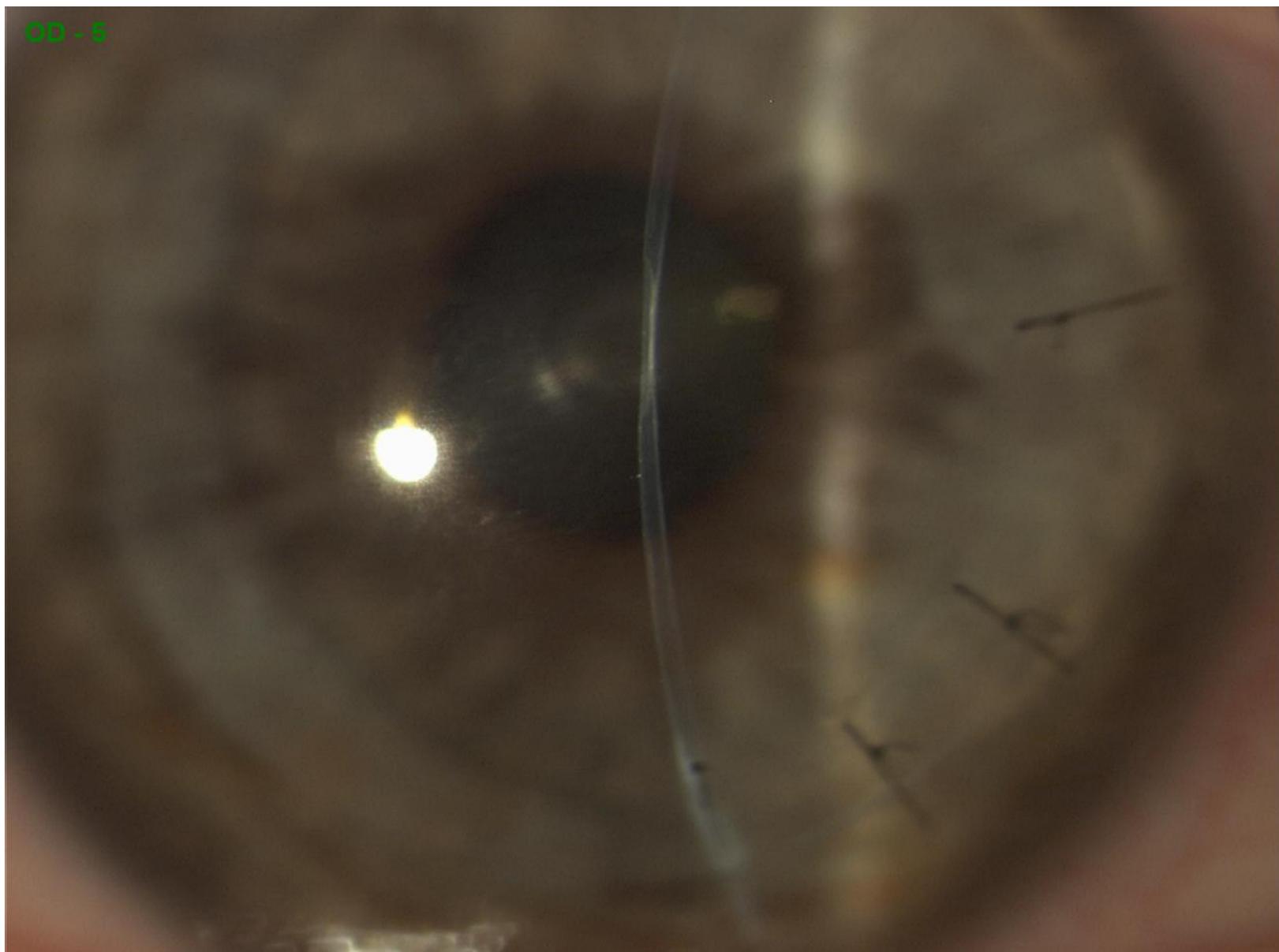
Totale assenza di elementi cellulari

Matrice extra-cellulare disidratata

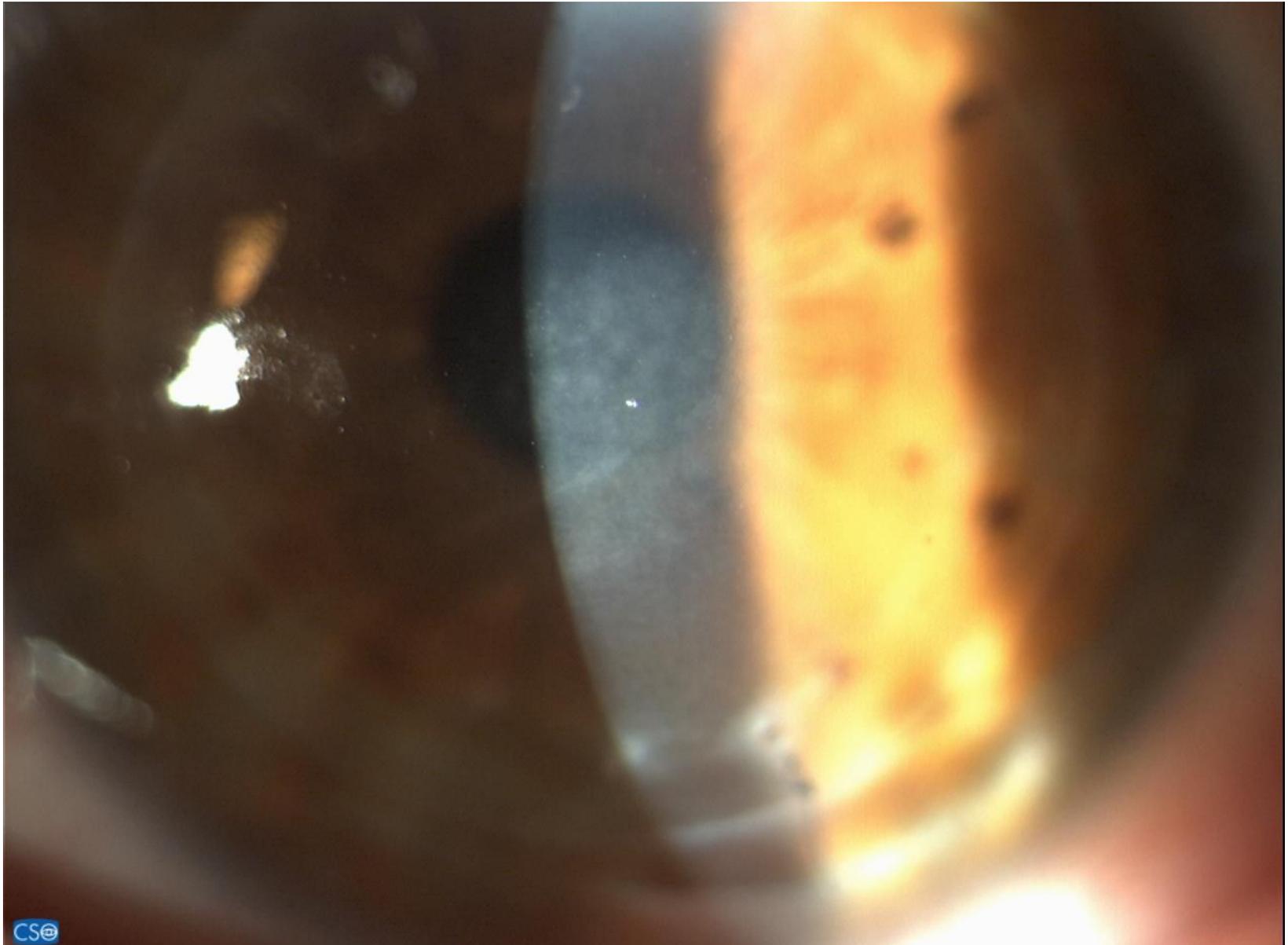
# **Tre segni caratteristici dopo almeno 2 anni dalla chirurgia**

- **Assottigliamento centrale**
- **Appiattimento centrale - ipermetropizzazione**
- **Opacità nubecolare diffusa centrale**

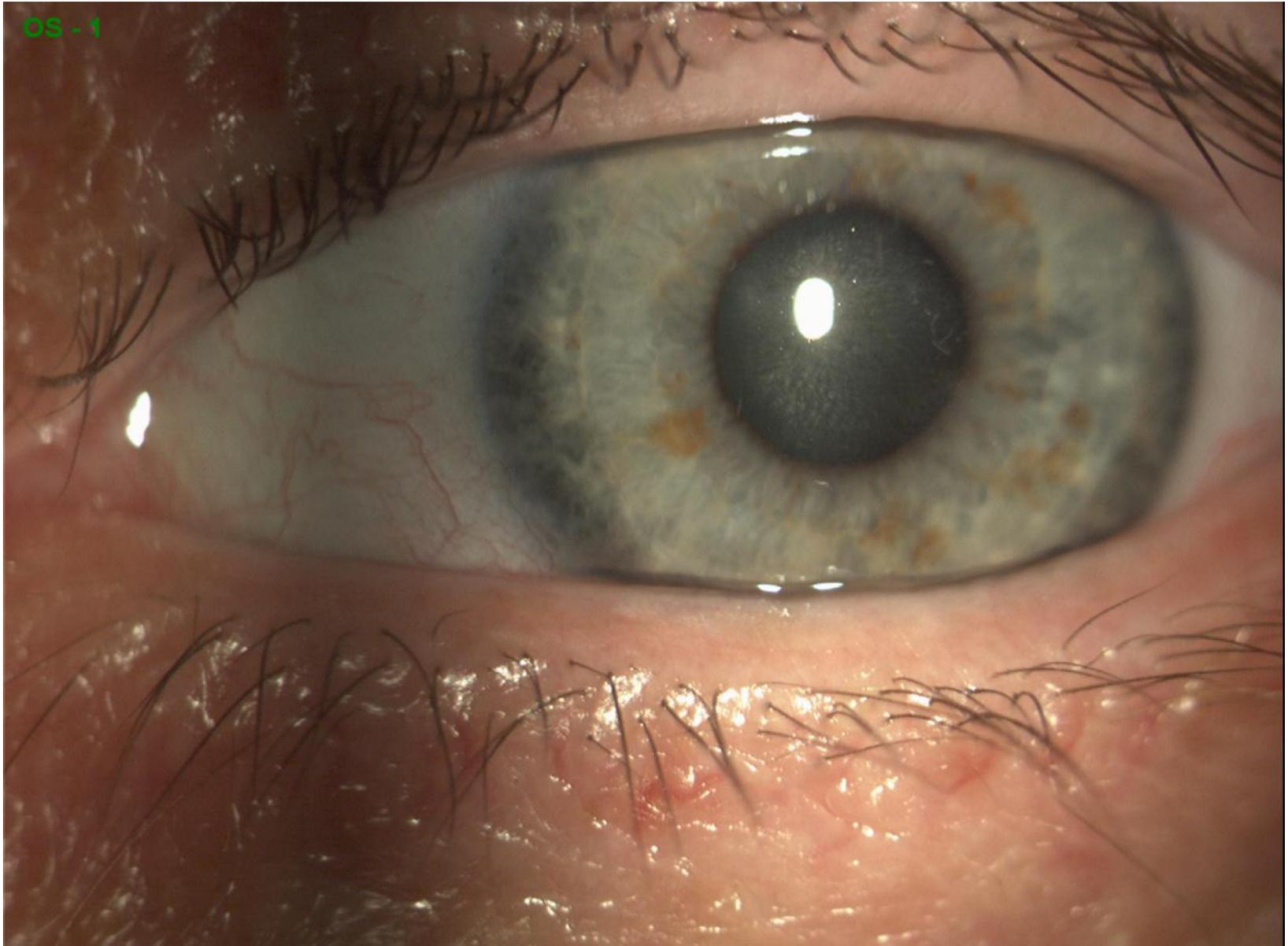
# Casi clinici: esiti di DALK



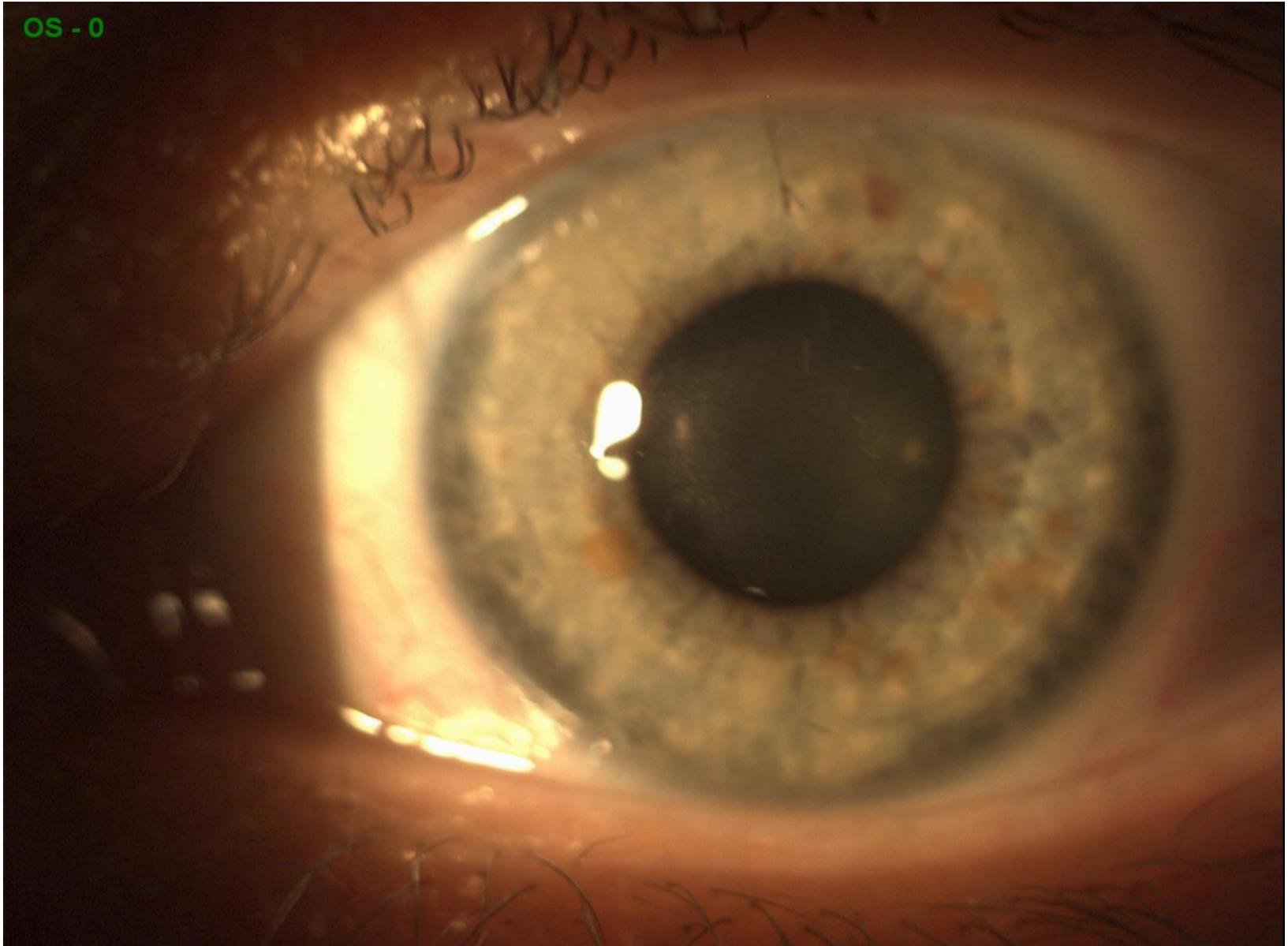
# Casi clinici: appiattimento corneale



# Casi clinici: opacità nubecolare



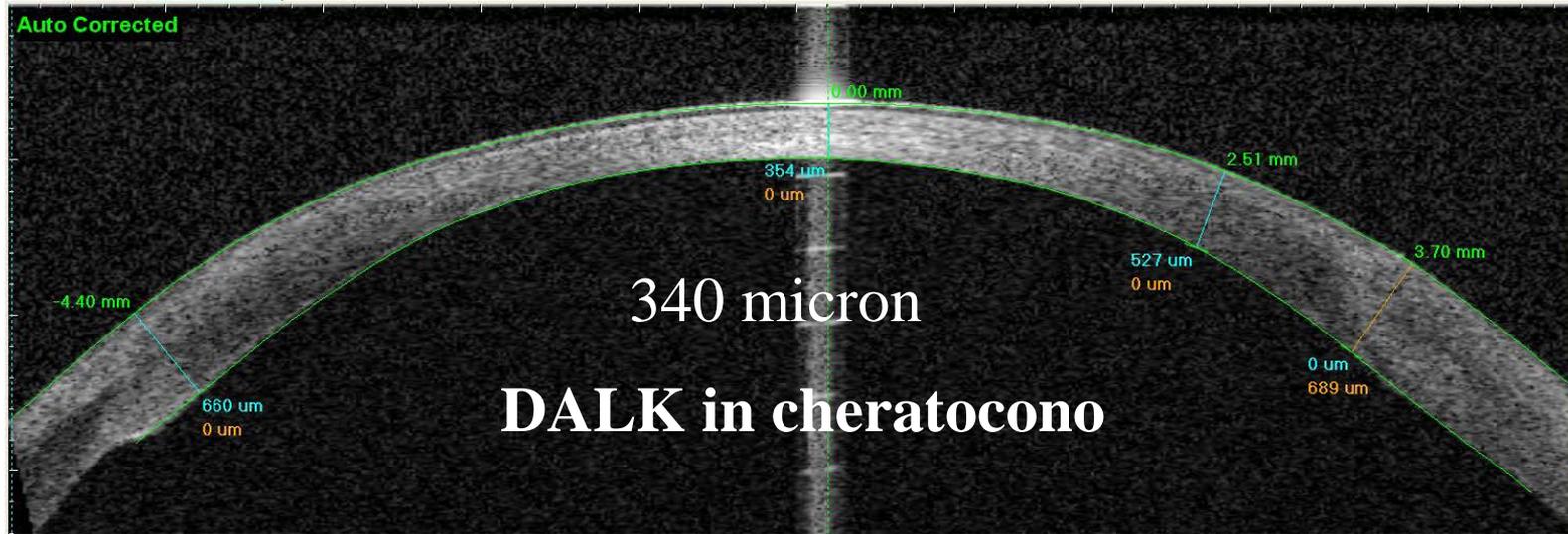
# Casi clinici: opacità nubecolare



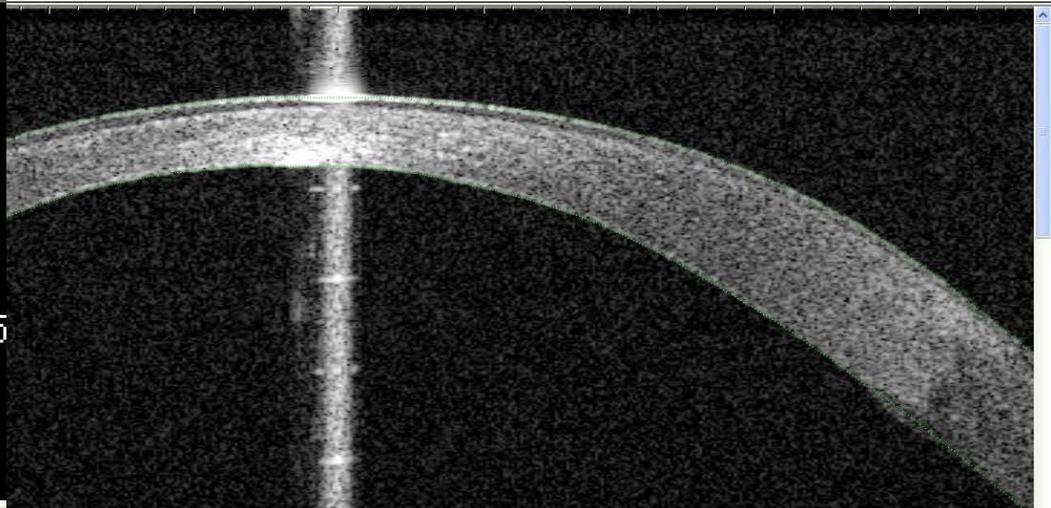
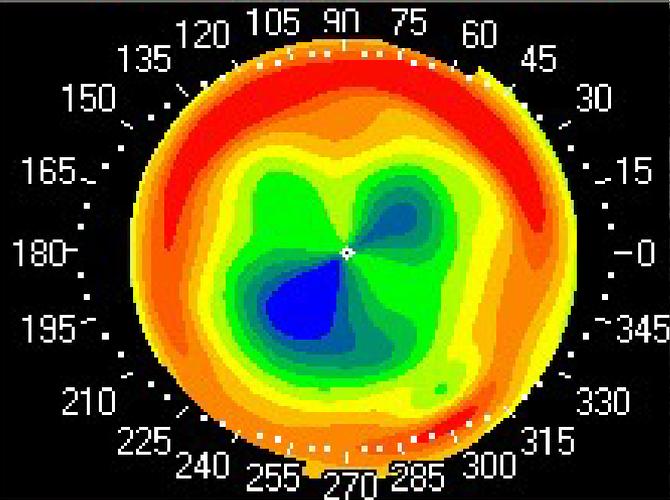
# Casi clinici: opacità nubecolare



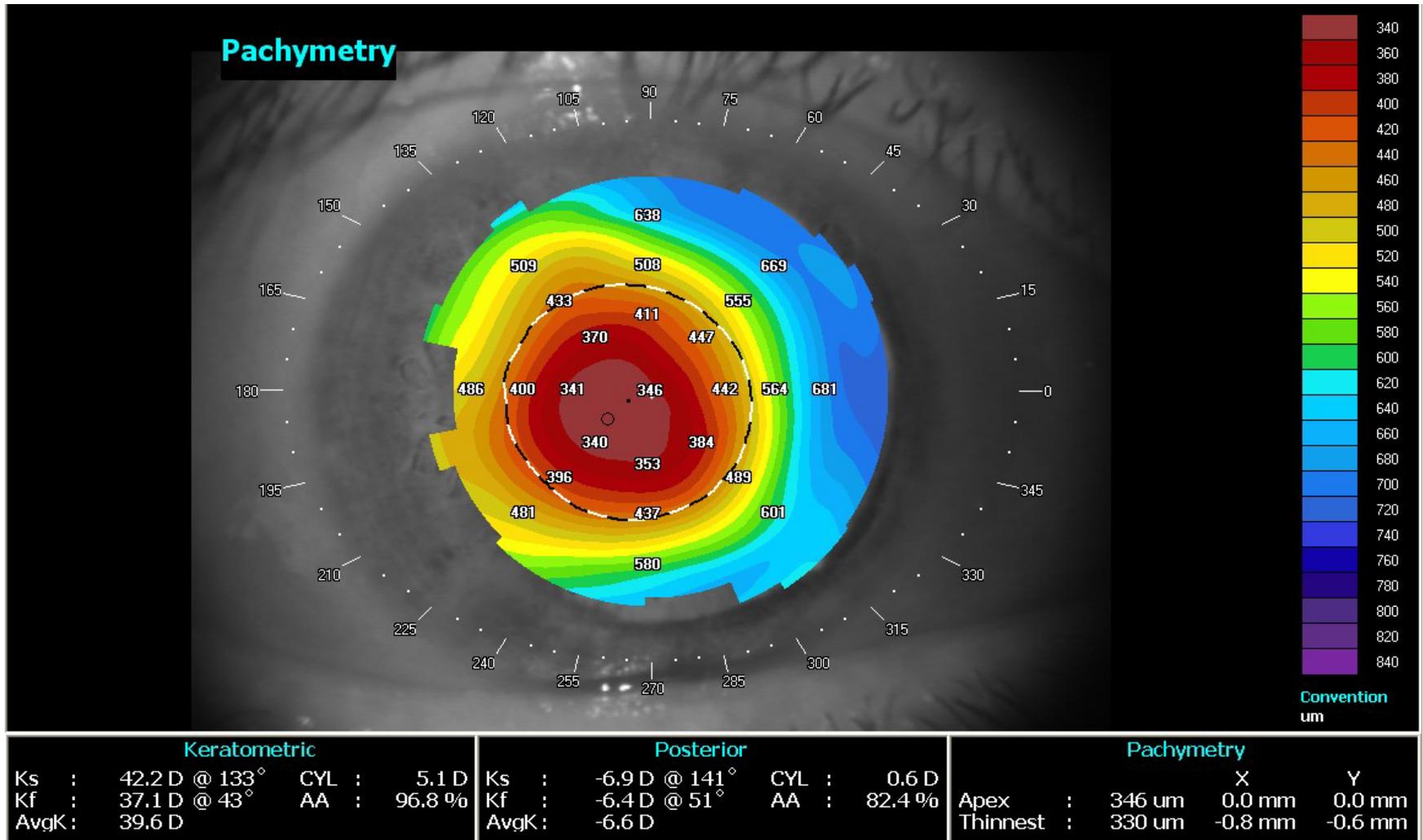
# Topografia corneale: caso 1



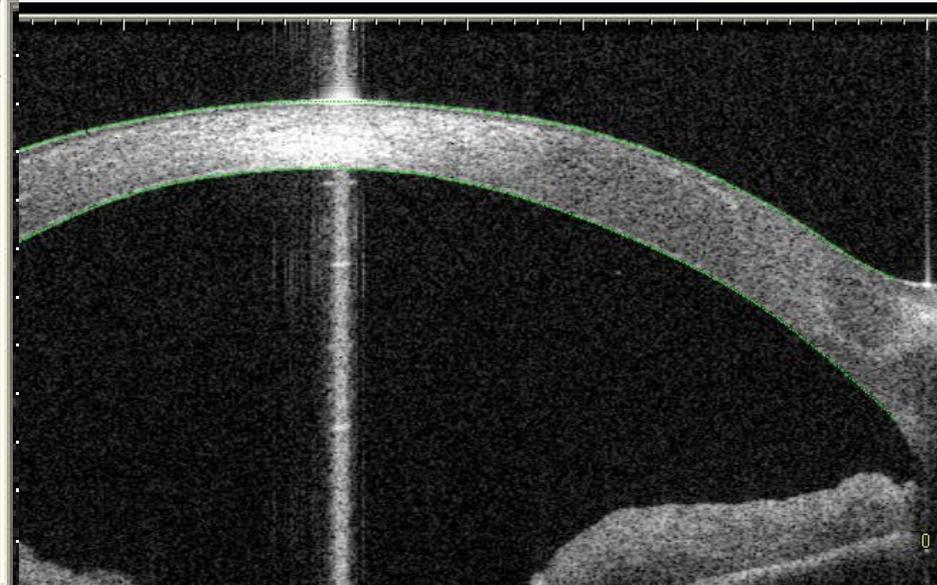
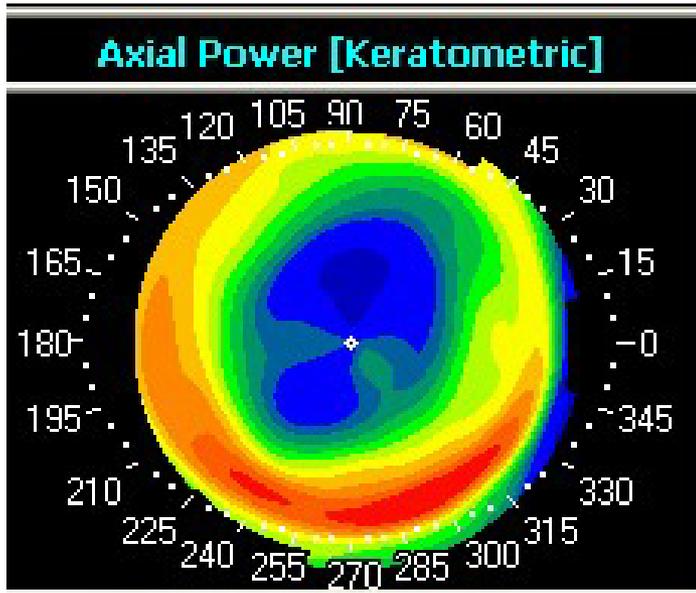
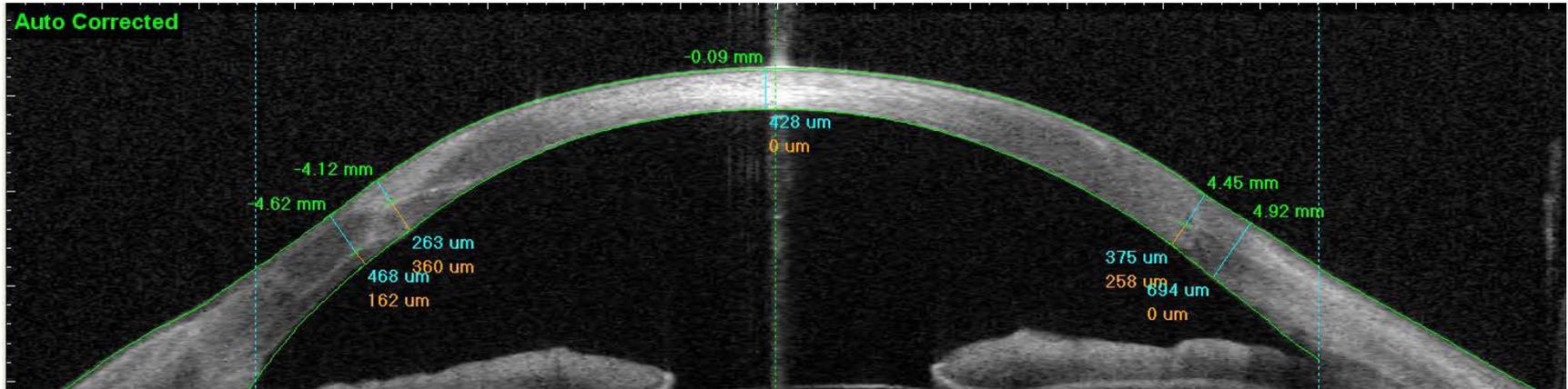
Axial Power [Keratometric]



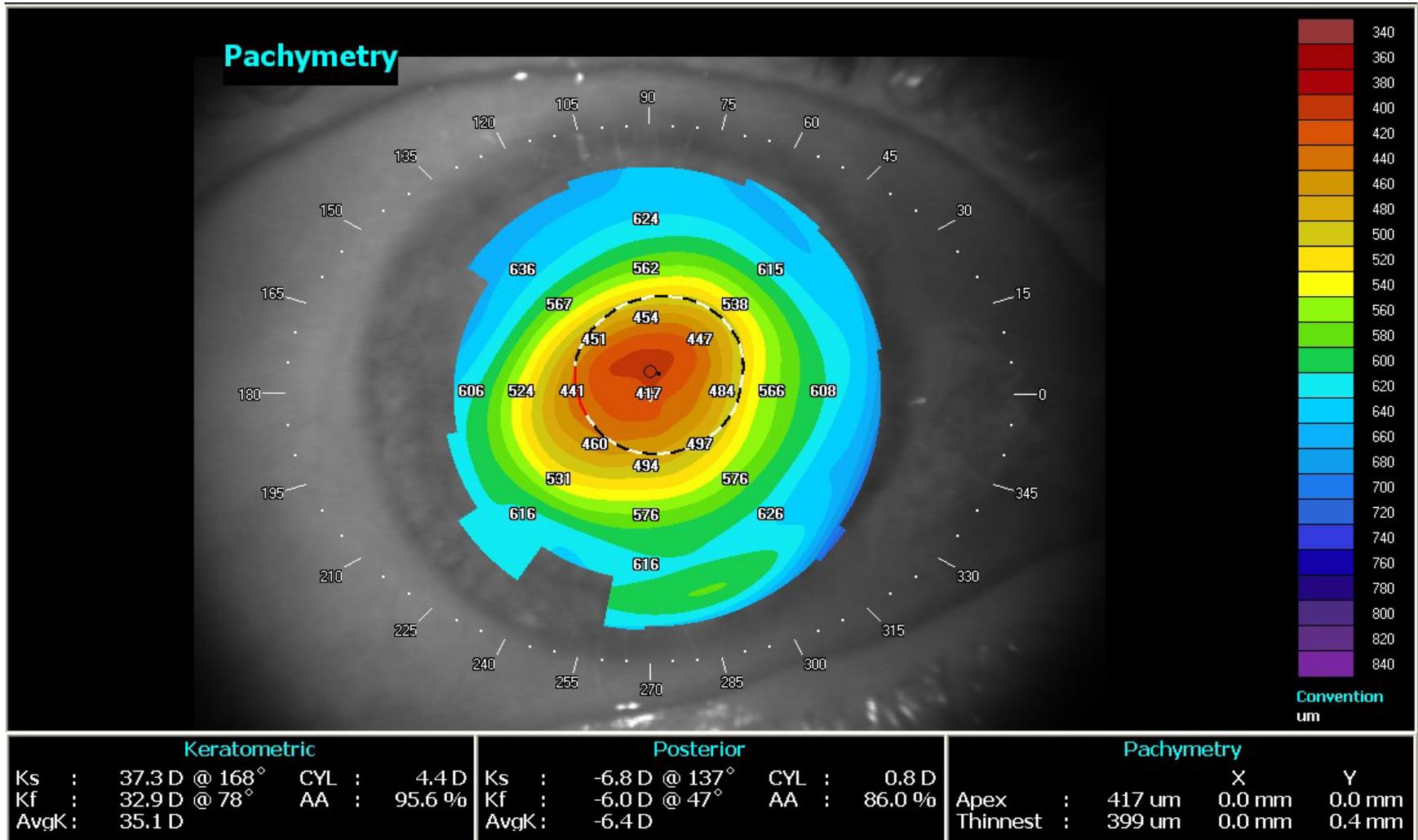
# Pachimetria corneale: caso 1



# Topografia corneale: caso2



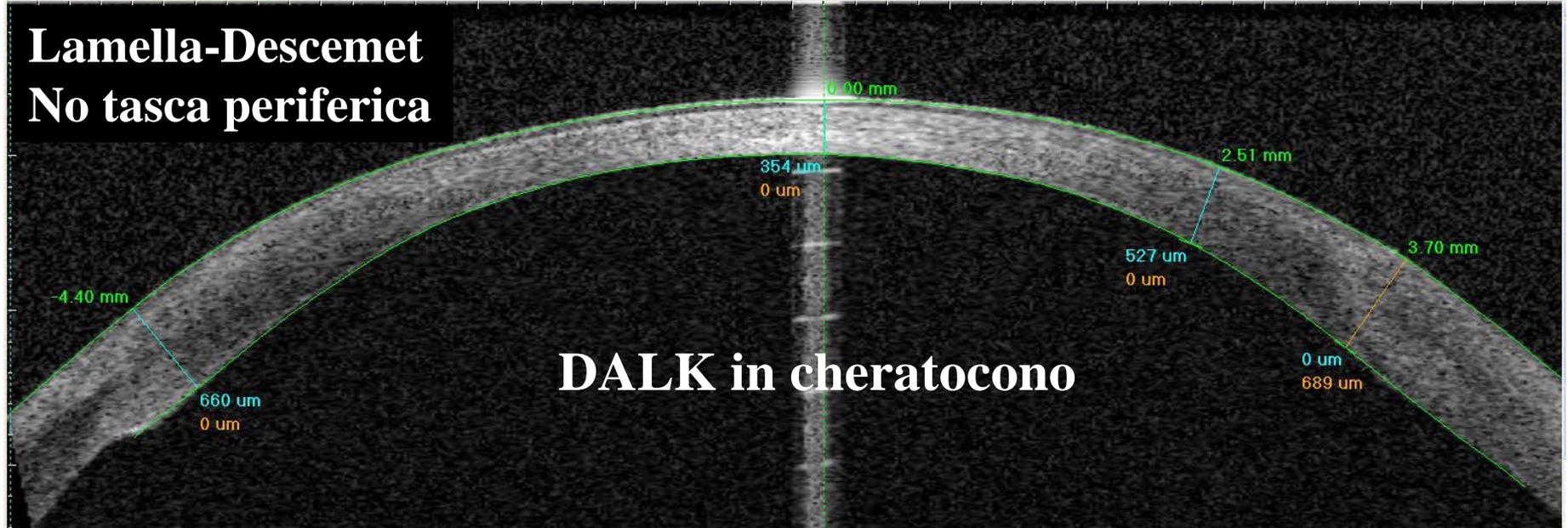
# Pachimetria corneale: caso 2



# Tre segni caratteristici dopo almeno 2 anni dalla chirurgia

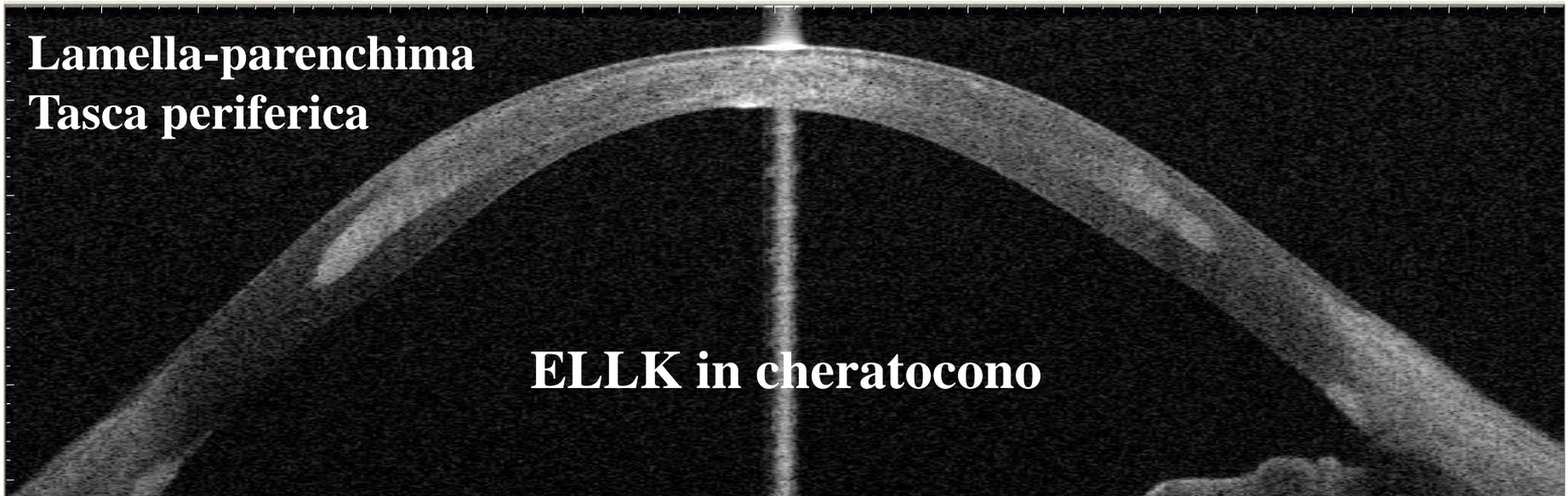
- **Assottigliamento centrale**
  - **Appiattimento centrale - ipermetropizzazione**
  - **Opacità nubecolare diffusa centrale**
- 
- *Questo corredo semeiologico appariva solo nelle DALK con impianto di lembi disidratati e non nelle lamelle fresche.*
  - *C'è un coinvolgimento della lamella disidratata come concausa di questi fenomeni?*
  - *Si verificano anche in cheratoplastiche lamellari di altro tipo con lamella disidratata?*

**Lamella-Descemet**  
**No tasca periferica**



## DALK vs ELLK

**Lamella-parenchima**  
**Tasca periferica**



**250 ALK descemetiche eseguite 2000-2012**



Trapianto tra 2007-2009  
KC di grado 2 (Amsler-Krumeich)  
Età ricevente  
Assenza di altre patologie oculari  
Assenza di trattamenti chirurgici precedenti



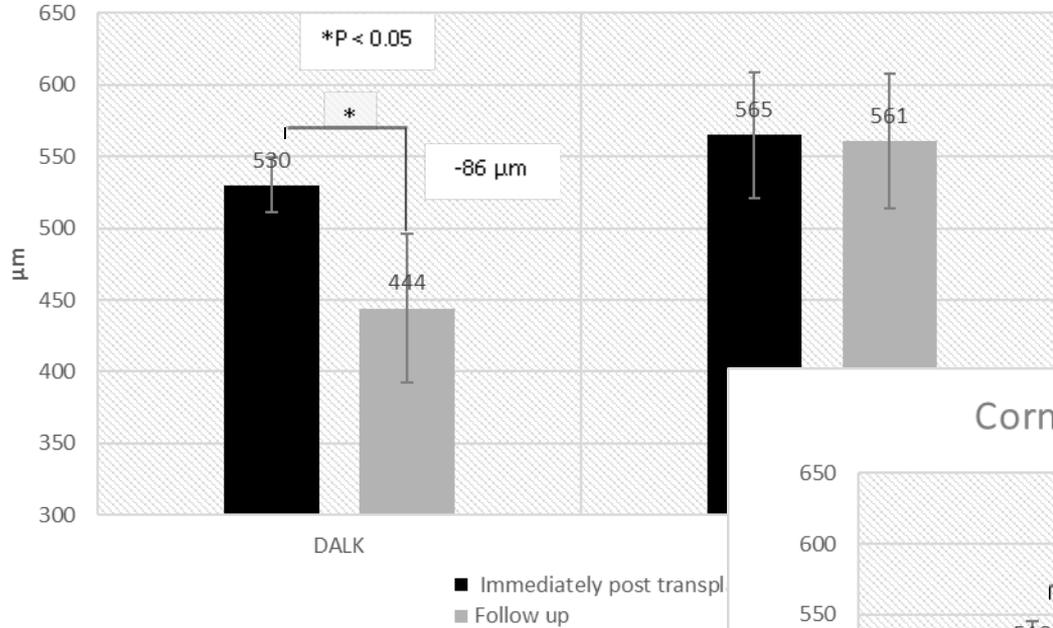
**60 ELLK eseguite 2000-2015**

# Studio osservazionale retrospettivo

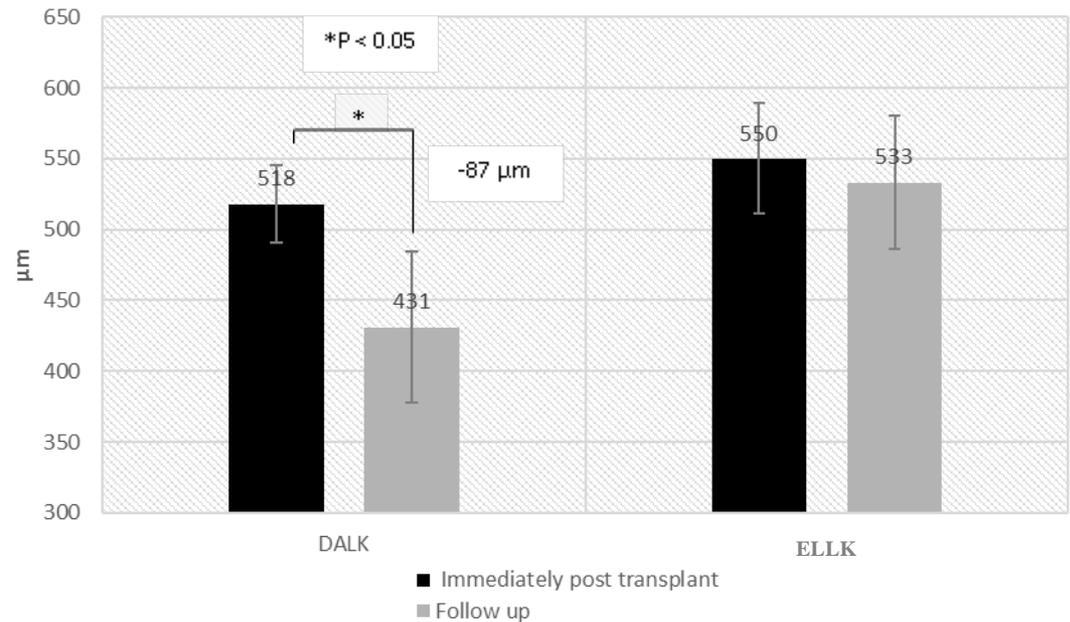
Case	Sex	Age	Kind of Surgery	Graft age (months)	Pachymetry ( $\mu\text{m}$ )		Keratocyte density (cells/ $\text{mm}^2$ )		
					Apex	Thinnest	100 $\mu\text{m}$	250 $\mu\text{m}$	400 $\mu\text{m}$
1	F	36	DALK	52	455	453	38	19	13
2 OS	M	46	DALK	62	471	469	0	0	0
2 OD	M	46	DALK	42	379	371	44	63	69
3 OS	M	37	DALK	47	480	425	22	35	41
4	M	57	DALK	41	346	330	19	19	19
5	M	56	DALK	62	469	460	31	100	113
6	M	33	DALK	51	464	460	24	39	42
7	M	19	DALK	62	489	480	28	44	50
<b>Mean DALK</b>		<b>41 <math>\pm</math> 13</b>		<b>52 <math>\pm</math> 9</b>	<b>444 <math>\pm</math> 52</b>	<b>431 <math>\pm</math> 53</b>	<b>26 <math>\pm</math> 13</b>	<b>40 <math>\pm</math> 31</b>	<b>43 <math>\pm</math> 36</b>
3 OD	M	37	ELLK	82	465	446	92	98	120
8	M	43	ELLK	62	567	529	106	175	194
9	M	29	ELLK	43	594	559	144	81	106
10	M	32	ELLK	42	570	537	44	144	169
11	M	29	ELLK	52	597	574	188	113	106
12	M	32	ELLK	55	503	479	94	108	130
13	M	69	ELLK	46	587	560	63	75	125
14 OD	M	36	ELLK	59	603	594	31	100	119
14 OS	M	36	ELLK	72	562	521	75	38	56
<b>Mean ELLK</b>		<b>38 <math>\pm</math> 12</b>		<b>57 <math>\pm</math> 13</b>	<b>561 <math>\pm</math> 47</b>	<b>533 <math>\pm</math> 47</b>	<b>93 <math>\pm</math> 49</b>	<b>104 <math>\pm</math> 40</b>	<b>125 <math>\pm</math> 39</b>

# Analisi pachimetria (Casia): media risultati

Corneal pachymetry in the apex point



Corneal pachymetry in the thinnest point



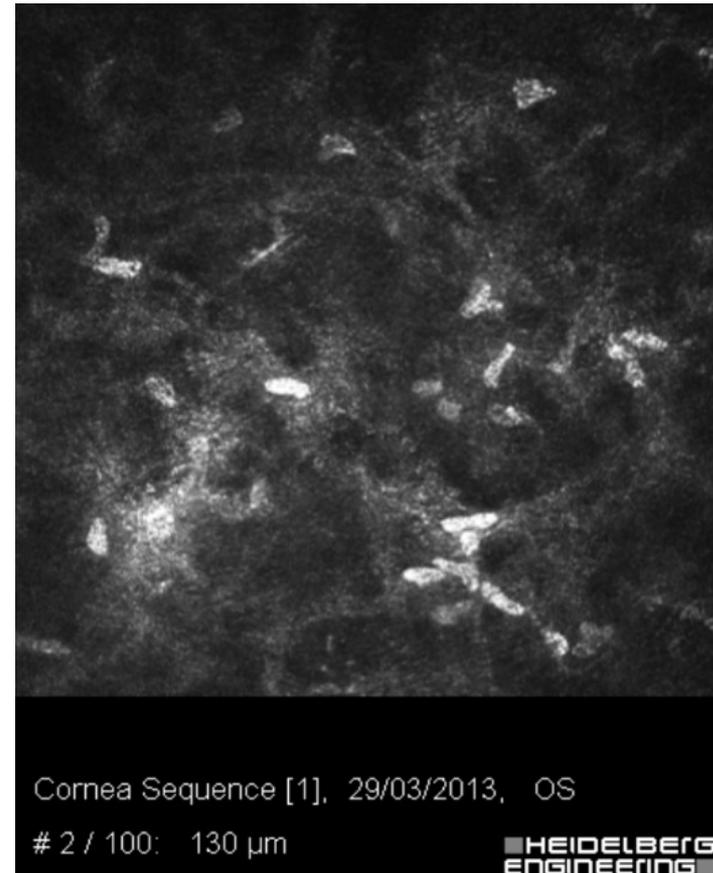


# Densità della popolazione cheratocitaria *in vivo* con microscopia confocale

DALK



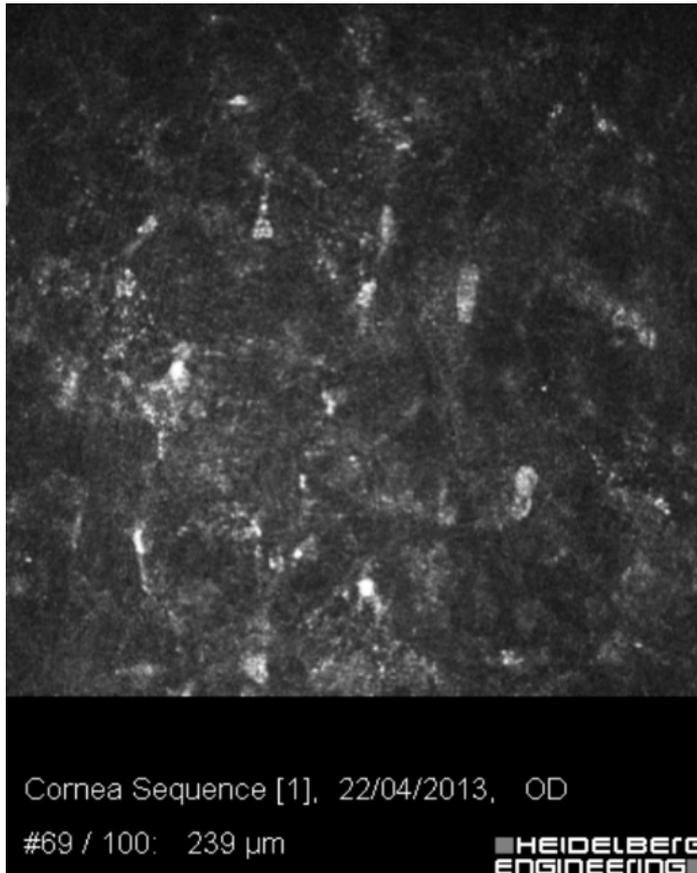
ELLK



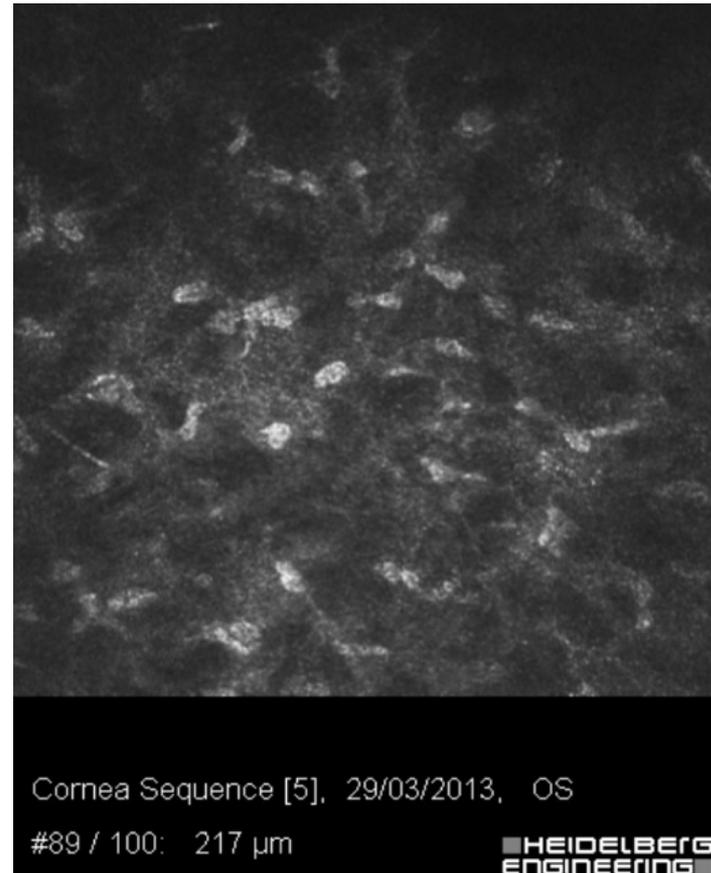
Stroma anteriore

# Densità della popolazione cheratocitaria *in vivo* con microscopia confocale

DALK



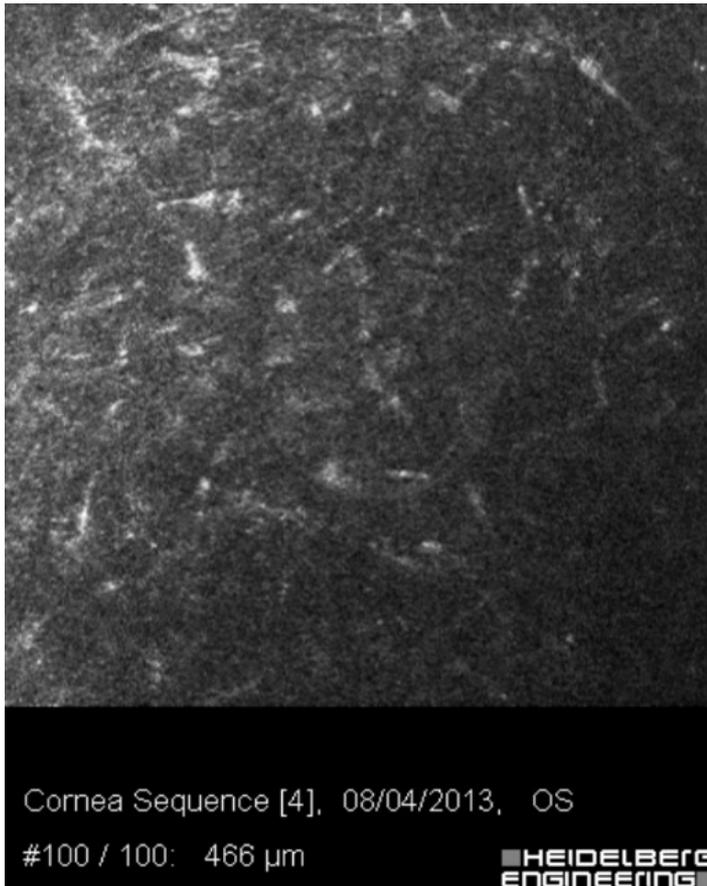
ELLK



Stroma medio

# Densità della popolazione cheratocitaria *in vivo* con microscopia confocale

DALK



ELLK



Stroma profondo

# Analisi della popolazione cheratocitaria con microscopia confocale

Case	Sex	Age	Kind of Surgery	Graft age (months)	Keratocyte density (cells/mm <sup>2</sup> )		
					100 μm	250 μm	400 μm
1	F	36	DALK	52	38	19	13
2 OS	M	46	DALK	62	0	0	0
2 OD	M	46	DALK	42	44	63	69
3 OS	M	37	DALK	47	22	35	41
4	M	57	DALK	41	19	19	19
5	M	56	DALK	62	31	100	113
6	M	33	DALK	51	24	39	42
7	M	19	DALK	62	28	44	50
<b>Mean DALK</b>		<b>41±13</b>		<b>52±9</b>	<b>26±13</b>	<b>40±31</b>	<b>43±36</b>
3 OD	M	37	ELLK	82	92	98	120
8	M	43	ELLK	62	106	175	194
9	M	29	ELLK	43	144	81	106
10	M	32	ELLK	42	44	144	169
11	M	29	ELLK	52	188	113	106
12	M	32	ELLK	55	94	108	130
13	M	69	ELLK	46	63	75	125
14 OD	M	36	ELLK	59	31	100	119
14 OS	M	36	ELLK	72	75	38	56
<b>Mean ELLK</b>		<b>38±12</b>		<b>57±13</b>	<b>93±49</b>	<b>104±40</b>	<b>125±39</b>

## DALK vs ELLK

### 1. Minore densità

- di cheratociti *in vivo*

### 2. Alterazioni cheratocitarie

- della forma

- della omogeneità di distribuzione

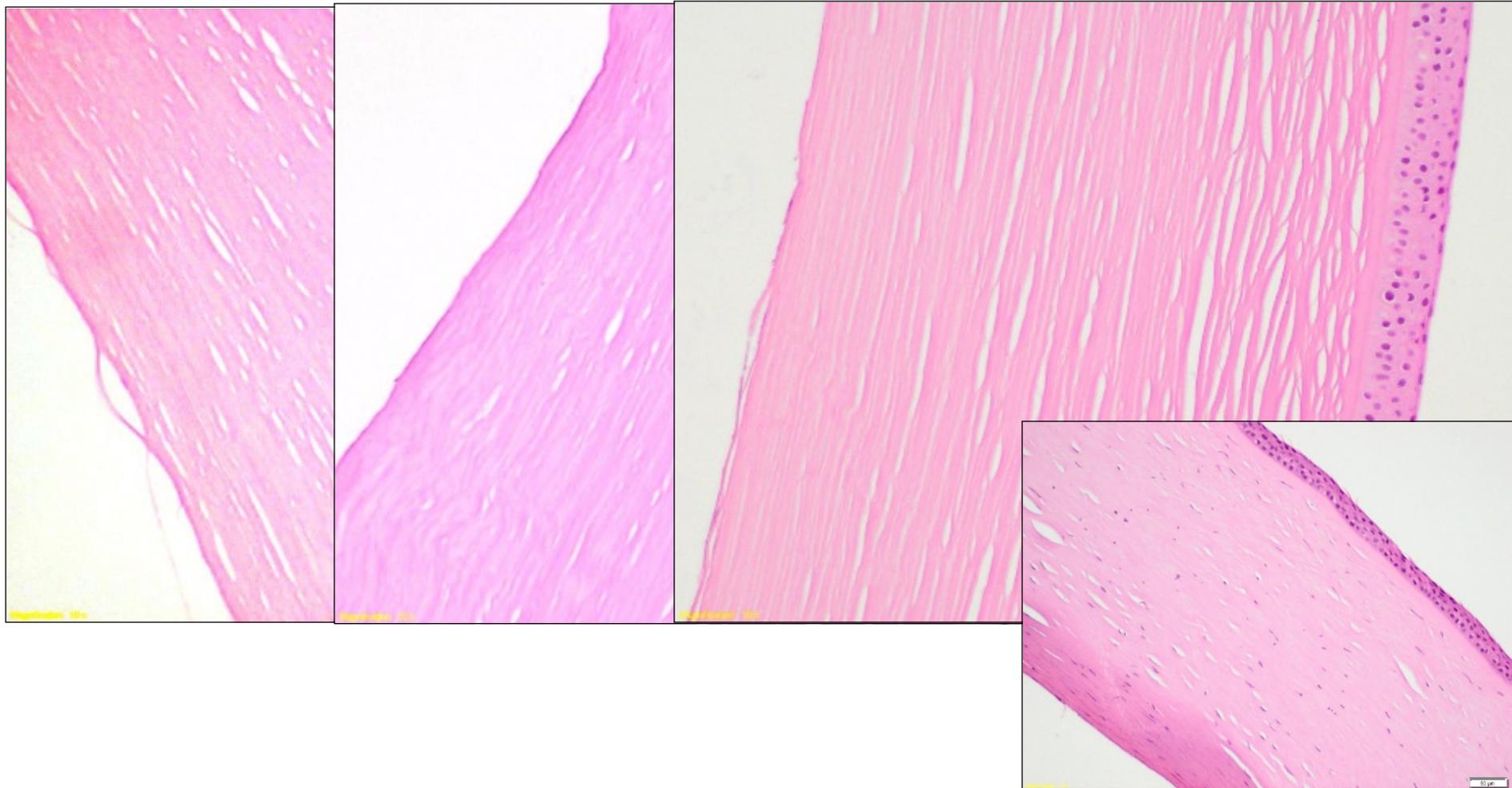
### 3. Presenza

- di pieghe

- di microdepositi

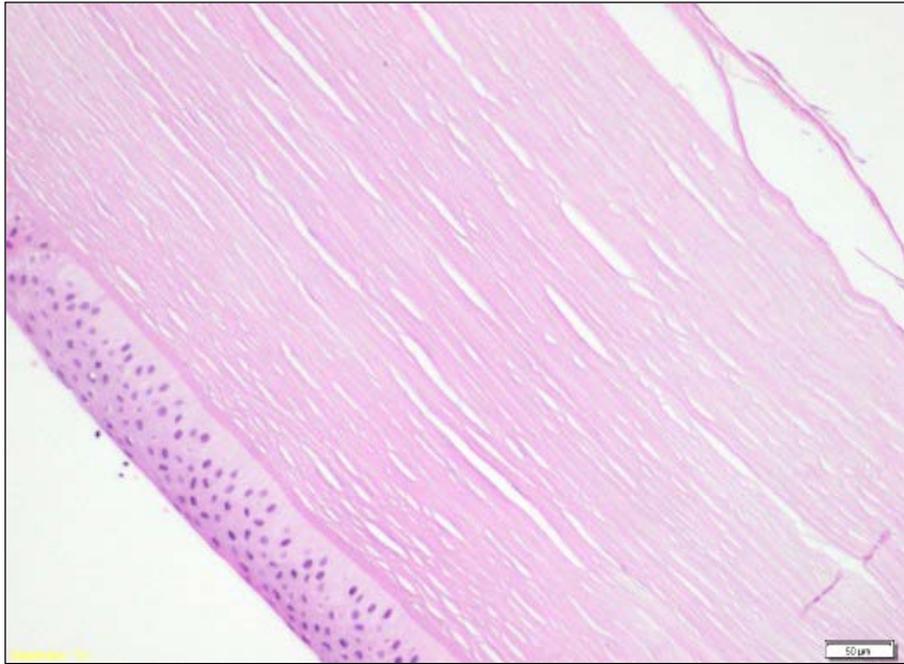
che alterano la trasparenza stromale

# Rimozione della lamella stromale post DALK: analisi istologica *ex vivo*

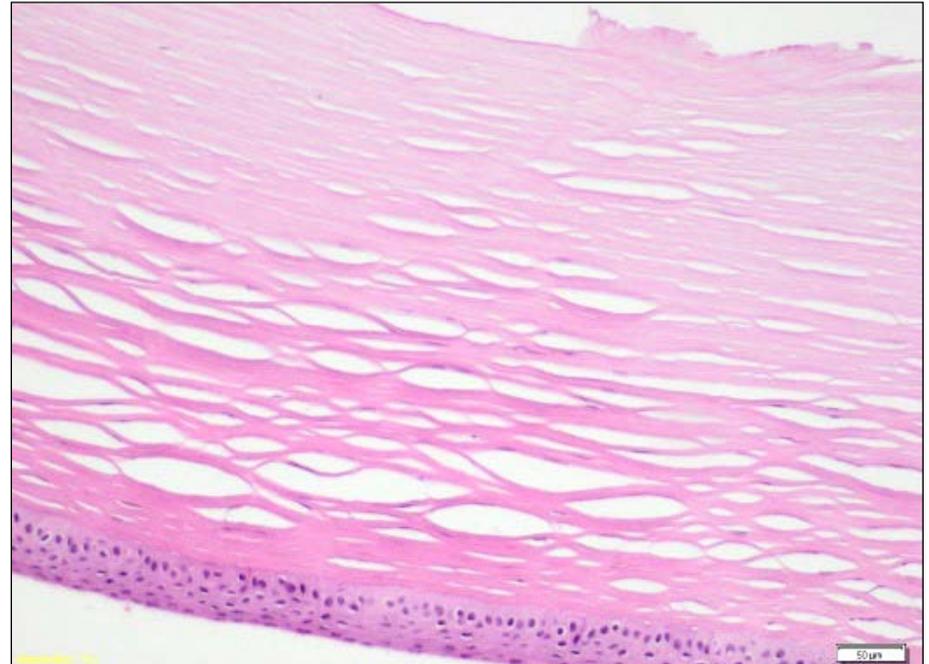


# Rimozione della lamella stromale post DALK: analisi istologica *ex vivo*

Sezione centrale



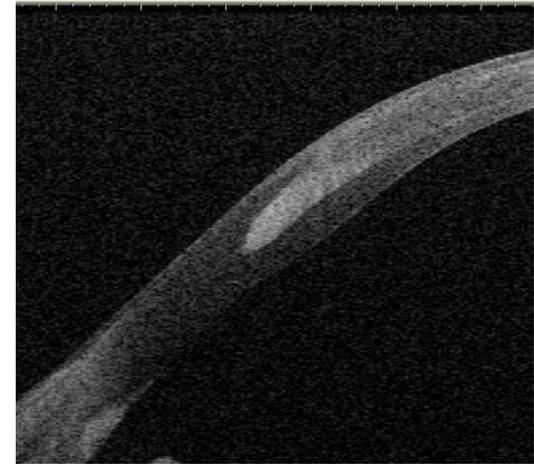
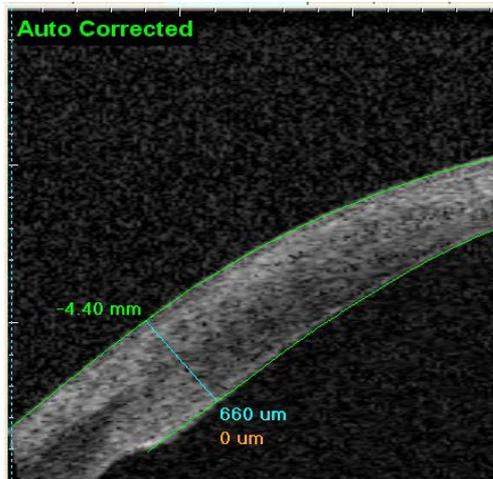
Sezione periferica





# DISCUSSIONE

- Perché l'assottigliamento in DALK si evidenzia principalmente nella **parte centrale** della lamella?



Il contatto periferico con il parenchima della cornea ricevente permette un sufficiente ripopolamento **solo a livello della giunzione** e delle sue immediate vicinanze ma non a livello delle porzioni più centrali dell'innesto (cfr. analisi istologica *ex vivo*)

# TAKE HOME MESSAGE

- Solo il contatto **parenchima-parenchima** è in grado di permettere un ripopolamento cheratocitario adeguato a mantenere vitale la lamella e quindi a garantire il ricambio del collagene.
- Il contatto **circonfrenziale** periferico con il letto ricevente assicura un modesto ripopolamento solo a livello della giunzione.
- Si può ragionevolmente dedurre che anche in **PK** il ripopolamento da parte della cornea ricevente avvenga prevalentemente alla periferia del bottone impiantato (la popolazione cheratocitaria centrale resta quella della cornea donante).

**Grazie per la vostra attenzione!**

**Paolo Bonci, Paola Bonci, Alessandra Russo, Lorenza D'Amato**

**Banca delle Cornee Regione Emilia Romagna - sede di Imola**

# DISCUSSIONE

**Teoria 1 (ref. 18):**

**Dopo il trapianto, lo stroma del donatore è ripopolato da cellule del ricevente attraverso un **movimento centripeto** (cheratociti del donatore funzionano come matrice per il ripopolamento).**

**Movimento verticale delle cellule stromali già dimostrato dopo danno epiteliale (24, 25), PRK e LASIK (26).**

# DISCUSSIONE

**Teoria 2 (ref. 22):**

**Dopo il trapianto, i cheratociti stromali del donatore sono in grado di sopravvivere a lungo termine.**

**Continuano a replicarsi da un unico «progenitore», una potenziale cellula staminale di origine mesenchimale (MSC - non ancora identificata in termini di marcatori e posizione).**

- MCS non è nelle periferia o nel limbus.**
- Se il movimento verticale è essenziale per la sopravvivenza dell'innesto, la potenziale MSC potrebbe essere localizzata all'interno dell'innesto nello stroma profondo.**