

# Lamellar graft preparations after corneal preservation in a new corneal hypothermic storage medium

M. Piaia<sup>1</sup>, A. Ruzza<sup>1</sup>, S. Ferrari<sup>1</sup>, U. Rodella<sup>2</sup>, L. Giurgola<sup>2</sup>, C. Gatto<sup>2</sup>, D. Ponzin<sup>1</sup>, J. D'Amato Tothova<sup>2</sup>

1 Fondazione Banca degli Occhi del Veneto, Zelarino, Italy

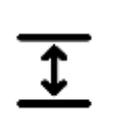
2 Research and Development, AL.CHI.MI.A. S.R.L., Ponte San Nicolò, Italy

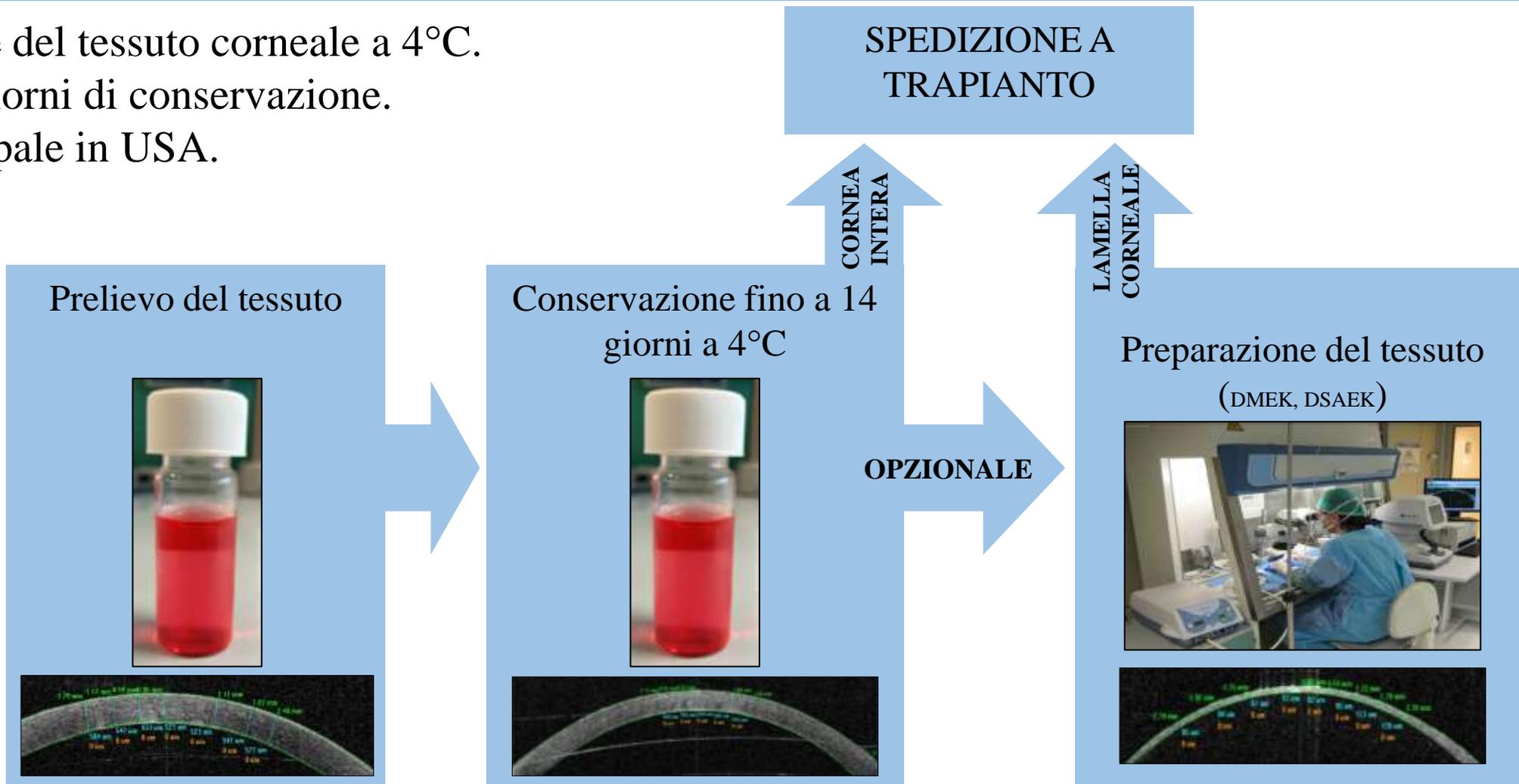
# Conservazione a freddo (4°C)

- Conservazione del tessuto corneale a 4°C.
- Massimo 14 giorni di conservazione.
- Metodo principale in USA.

 **Workflow**

 **Storing**

 **Spessore corneale**



# Eye Banking: conservazione a freddo (4°C)

## VANTAGGI

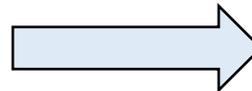
- Mantenimento spessore corneale (no edema)
- Unico liquido (meno manipolazioni)
- Microscopia Speculare

## SVANTAGGI

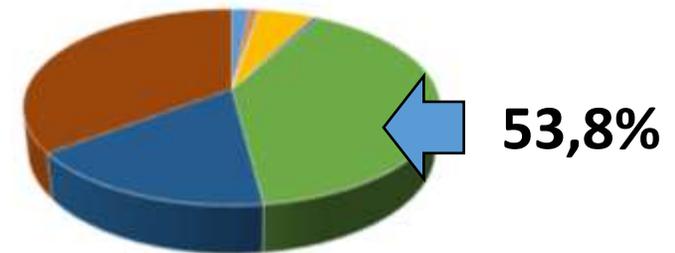
- Metabolismo cellulare rallentato
- Antibiotici meno efficaci
- Tempi brevi per microbiologie
- Conservazione breve (14 giorni)

Reasons Released Tissues Were Not Transplanted	2021		2022		2023	
	Count	Percentage	Count	Percentage	Count	Percentage
Transportation Issue	469	7.1%	247	4.1%	192	2.3%
Surgeon Issue	124	1.9%	80	1.4%	82	1.0%
Recipient Issue	36	0.5%	38	0.6%	33	0.4%
Returned and Unable to Place Again	507	7.6%	432	7.2%	590	6.9%
Donor Information Not Available at the Time of Tissue Release	54	0.8%	20	0.3%	58	0.7%
Expired or Unable to Place Tissue	3,539	53.3%	2,922	48.9%	4,584	53.8%
Tissue Damaged During Processing	1,416	21.3%	1,529	25.6%	1,927	22.6%
Other Reason After Release of Tissue	1,096	16.5%	2,985	50.0%	4,079	47.8%
<b>Total eyes/corneas released for transplant but not used for transplant</b>	<b>6,634</b>		<b>5,974</b>		<b>8,527</b>	

\*Percentages read from this table should be read as "of the tissue not released for transplant"



2023 Released Tissue Not Transplanted - U.S. Eye Banks



- Transportation Issue
- Surgeon Issue
- Recipient Issue
- Returned and Unable to Place Again
- Donor Information Not Available at the Time of Tissue Release
- Expired or Unable to Place Tissue
- Tissue Damaged During Processing
- Other Reason After Release of Tissue

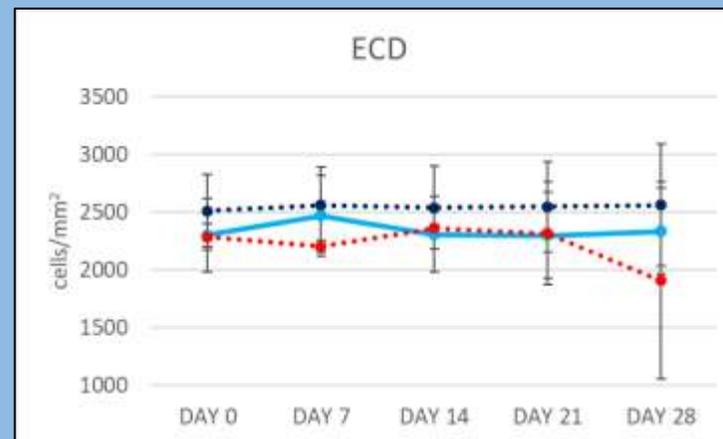
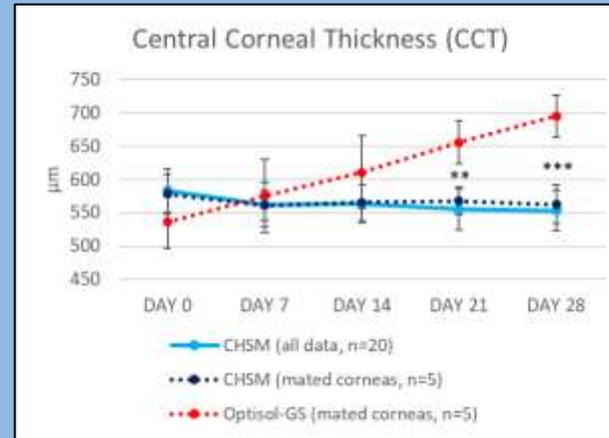
# Nuovo liquido per la conservazione a freddo (4°C)



## OBIETTIVI:

- Portare la **conservazione a freddo da 14 a 28 giorni**
- **Miglioramento qualità del tessuto rispetto agli standard attuali**

## RISULTATI



## RISULTATI:

- **Spessore corneale mantenuto fino a 28 giorni**
- **ECD mantenuto fino a 28 giorni**

# Nuovo liquido per la conservazione a freddo (4°C)

## Vantaggi rispetto a gold standard attuali:

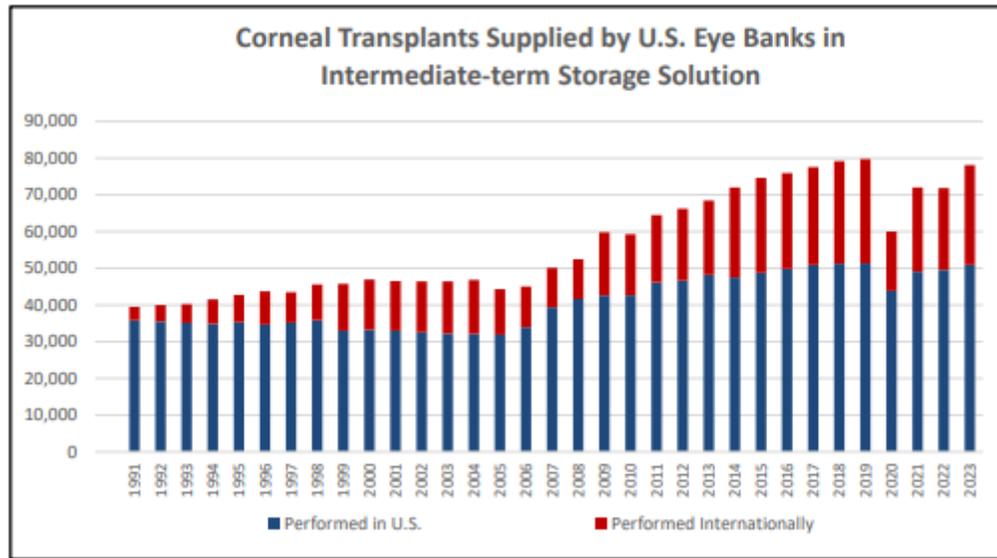
**Conservazione estesa a 28 giorni**

**Migliore gestione delle richieste dei chirurghi per trapianto**

**Migliore gestione delle analisi microbiologiche**

**Miglioramento qualità del tessuto rispetto agli standard attuali**

# TRENDS TRAPIANTO CORNEALE



Numero di trapianti in aumento negli ultimi 30 anni

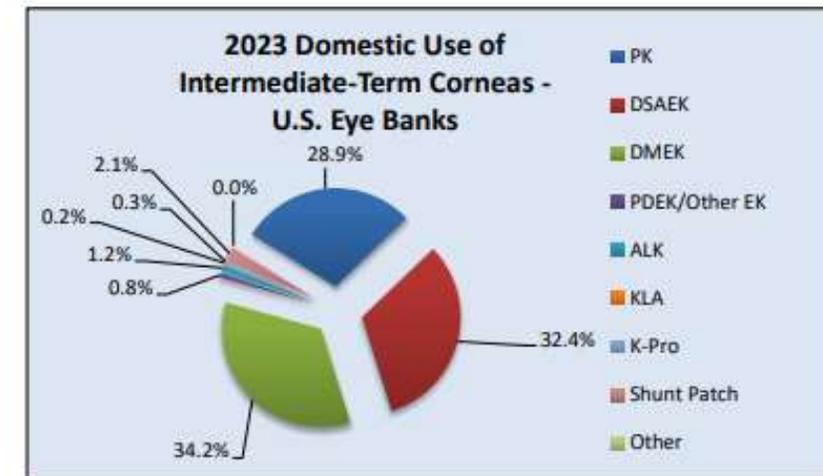


Figure 5: Domestic use of intermediate-term corneas, 2023.

Le EK (Endokeratoplasty) hanno superato in numero le PK (penetrating Keratoplasty).

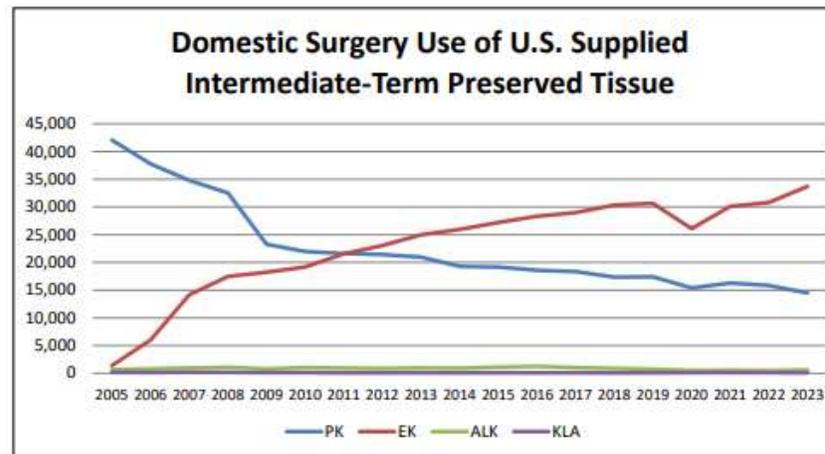


Figure 4: Domestic PK vs. EK vs. ALK Surgery Trends 2005 - 2023.

DSAEK (Descemet stripping automated endothelial keratoplasty) sono 32,4% delle procedure chirurgiche nel 2023

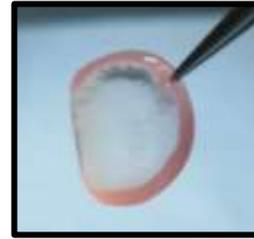
# PROBLEMATICHE DSAEK

POST-TAGLIO



SIBO in SITRAC\_2015 – Salvalaio et al.

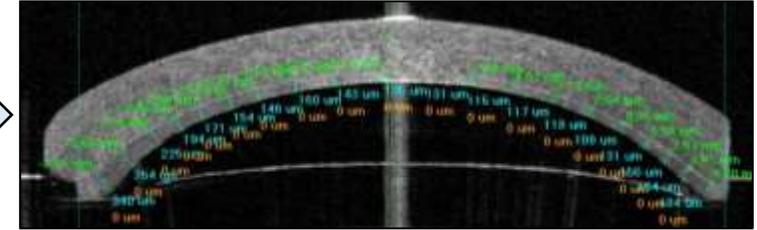
LENTICOLO ANTERIORE



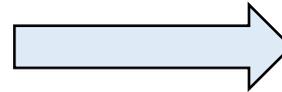
+ 18 ± 21 %



POST-Conservazione (7 giorni)



Dopo il taglio, lo spessore del graft aumenta.



Il CHSM è adatto alla preparazione di DSAEK e alla loro spedizione a freddo EVITANDO QUESTO PROBLEMA?

Impatto dell'ispessimento sulla qualità del trapianto (recupero più veloce della visione, attecchimento della membrana più semplice).

Kuzman, T. et al. (2022). Influence of Donor Thickness on Visual Acuity in Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Journal of Ophthalmic and Vision Research.*

Roberts, H. W. et al. (2015). Visual outcomes and graft thickness in microthin DSAEK - One-year results. *Cornea.*

Studio sperimentale

# METODI E DESIGN SPERIMENTALE

Quindici cornee ( $n=15$ )  
**NON idonee a trapianto**

## Criteria di inclusione

ECD > 1800 cells/mm<sup>2</sup> / CCT nel range fisiologico  
Mortalità endoteliale < 3,5% / Parametri microscopio speculare ottimali  
No donatori diabetici/ No donatori con intervento di cataratta

## VALUTAZIONI GIORNO 0 (pre-conservazione)

**Gruppo di studio**  
**CHSM medium**  
**2-8°C**

**10 giorni in flacone+ 4 giorni in CVC**  
per simulazione trasporto ( $n=10$ )



**Gruppo di controllo**  
**EUSOL-C (AL.CHI.MI.A. Srl)**  
**2-8°C**

**10 giorni in flacone+ 4 giorni in CVC**  
per simulazione trasporto ( $n=5$ )



## Microscopio Speculare:

(CellChek®D+, Konan Medical Inc)

- **Densità Endoteliale (ECD)**
- **HEX%**
- **CV%**

## Colorazione Trypan blue + Colorazione Calceina (Microscopio ottico + Microscopio a Fluorescenza):

- **Mortalità Endoteliale**

## Tomografia a coerenza ottica:

(OCT SS-1000 Casia Tomey GmbH)

- **Spessore corneale centrale (CCT)**

## Light Meter:

(PCE instruments; PCE-174)

- **Trasparenza corneale**

## Monitoraggio della pressione

Manometro PCE-910 (PCE instruments)

- **Pressione di taglio della DSAEK**

**VALUTAZIONI GIORNI 7, 10** (pre e post DSAEK), **10+2** simulazione trasporto, **10+4** simulazione trasporto

# PREPARAZIONE DELLA DSAEK E SIMULAZIONE TRASPORTO

**LIQUIDO DI  
CONSERVAZIONE  
(10 GIORNI, 4°C)**

**EUSOL-C**



**CHSM**



**TAGLIO PER DSAEK (GIORNO 10)**



**Metodo Verticale:** Microcheratomo modello LSK3 con sistema ALTK-CBm (Moria) e unità di controllo Evolution3E. Usata testina CBm-ALTK 350 (Moria).

**MONITORAGGIO PRESSIONE**



**Monitoraggio della pressione** durante il taglio per DASEK:  
manometer PCE-910 (PCE instruments)

**SIMULAZIONE DI TRASPORTO  
4 GIORNI, 4°C**

**In una nuova CORNEAL VIEWING  
CHAMBER (CVC) (AL.CHI.MI.A. Srl)**



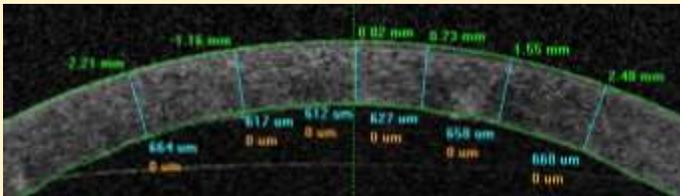
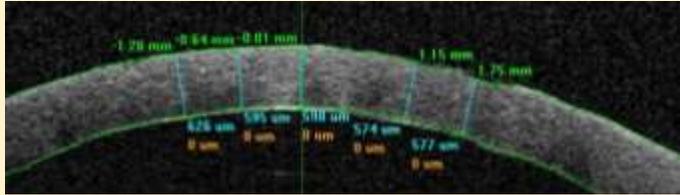
# VALUTAZIONE DI SPESSORE CORNEALE

CCT

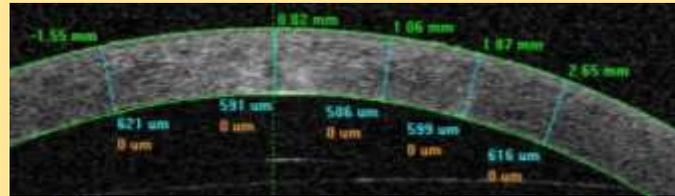
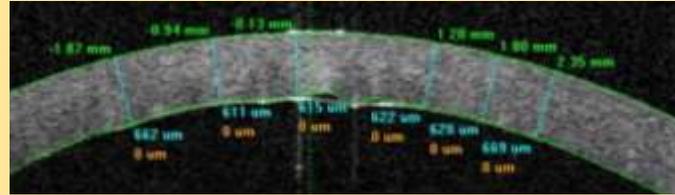
EUSOL-C  
4°C

CHSM  
4°C

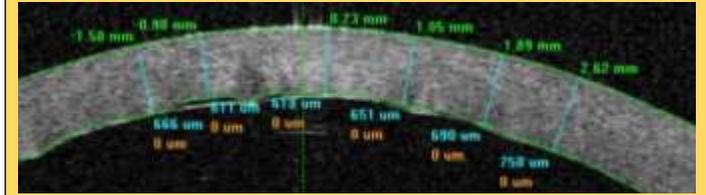
DAY 0



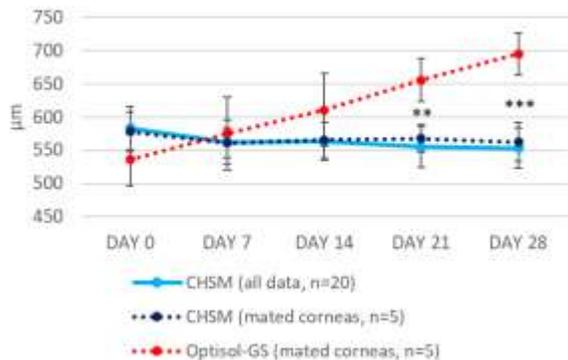
DAY 7



DAY 10 PRE DSAEK



Central Corneal Thickness (CCT)



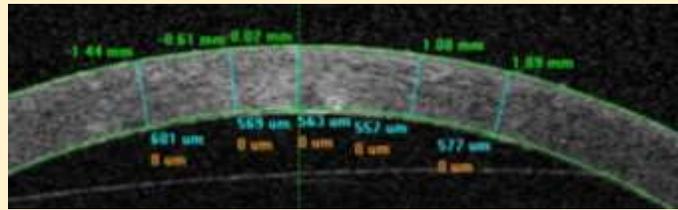
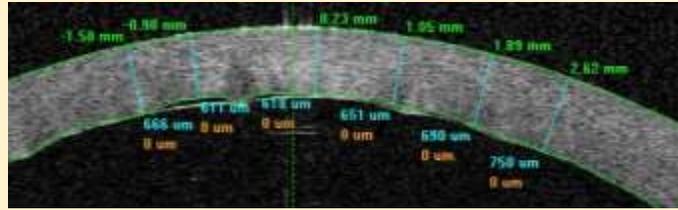
CCT



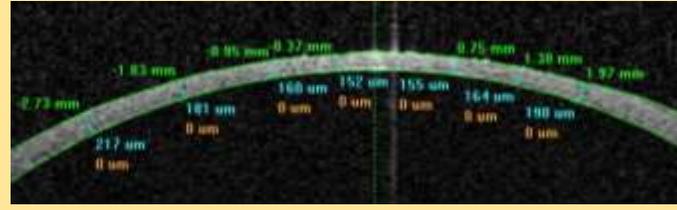
Con CHSM lo spessore del tessuto è stato mantenuto fino a 10 giorni come già evidenziato in studi precedenti.

# VALUTAZIONE DI SPESSORE CORNEALE

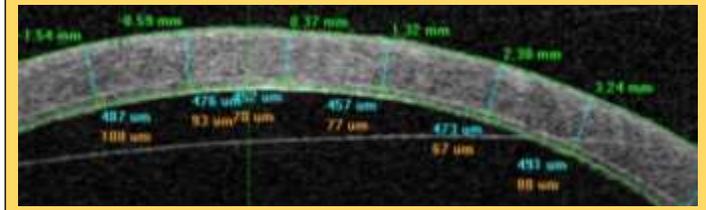
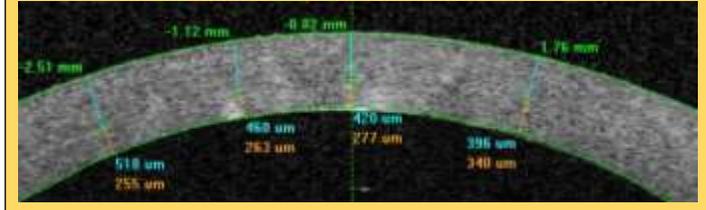
PRE DSAEK (DAY 10)



POST DSAEK (DAY 10)



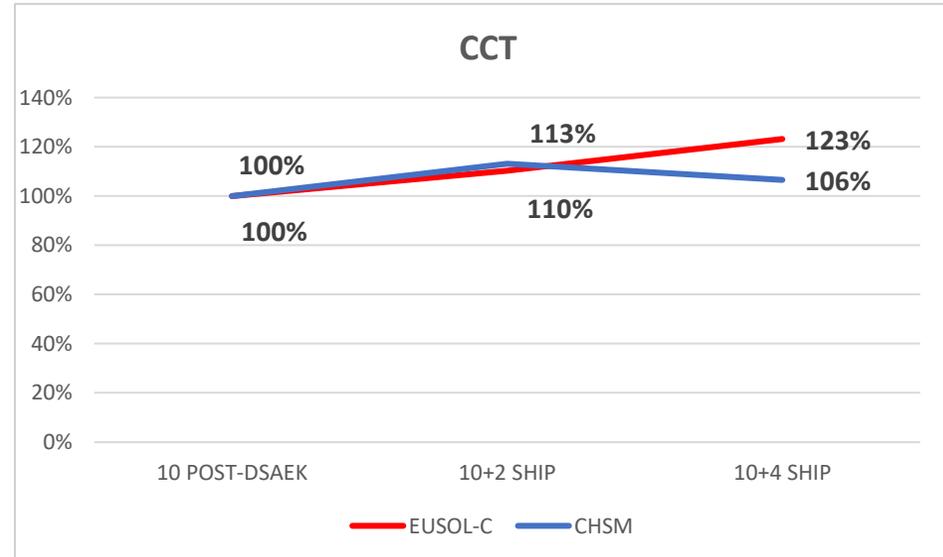
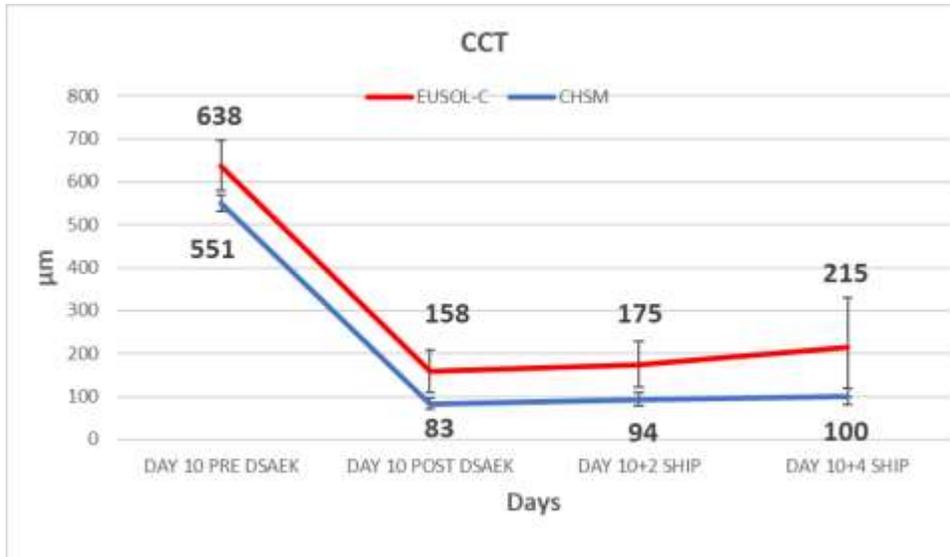
DAY 10+4 DAYS SHIPPING SIMULATION



CCT

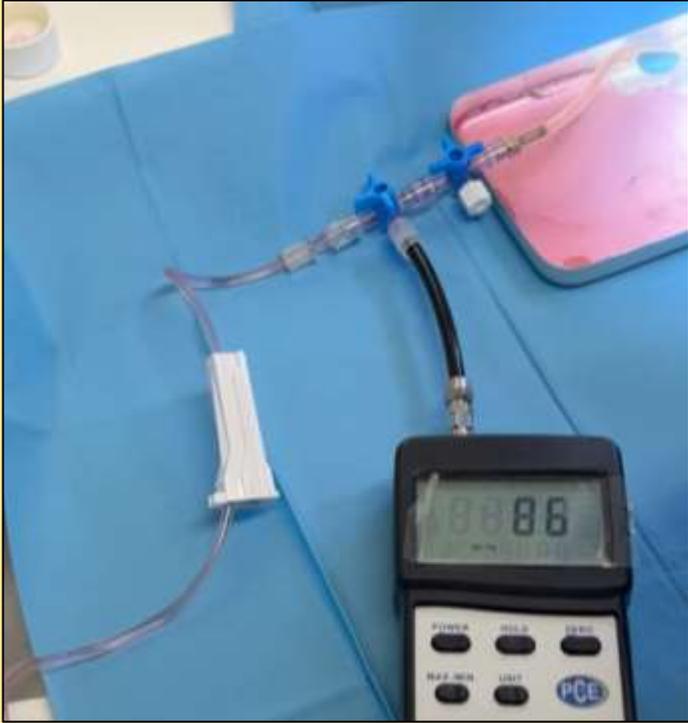
EUSOL-C  
4°C

CHSM  
4°C



Con CHSM lo spessore del tessuto è stato mantenuto fino a 10 giorni + 4 giorni post taglio e simulazione trasporto a 4°C

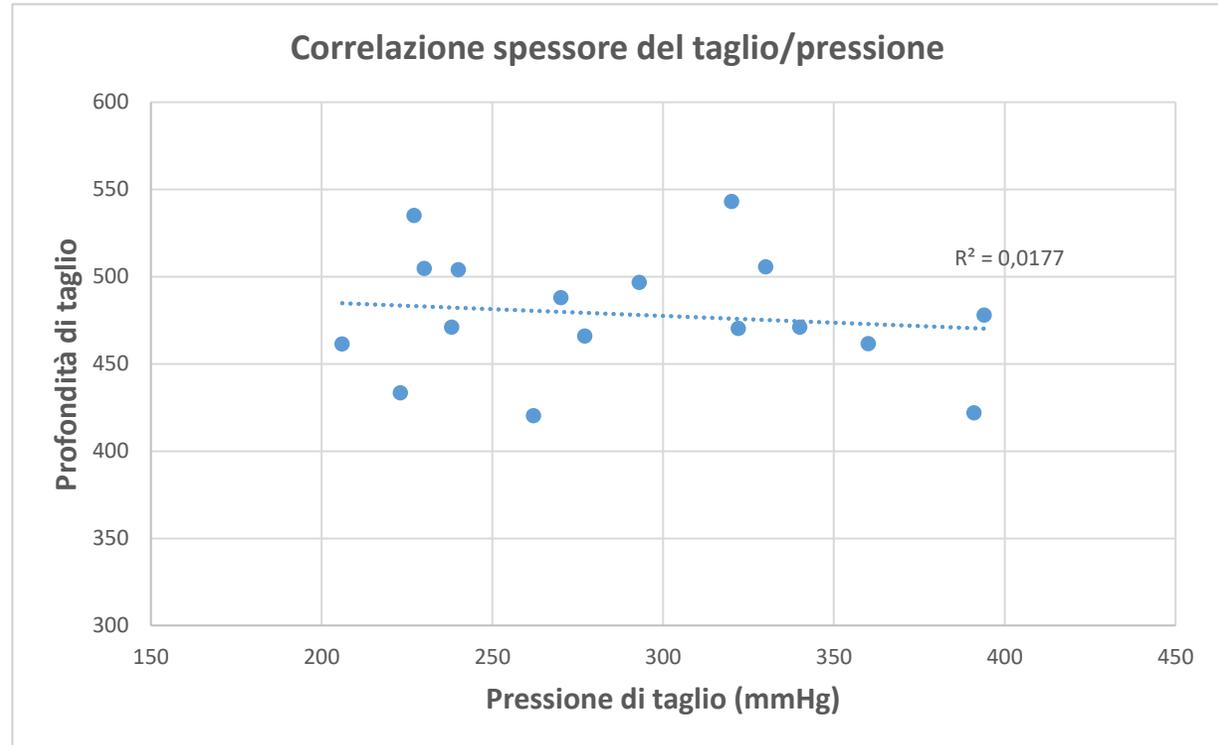
# Correlazione spessore di taglio/pressione



**Monitoraggio della pressione** durante il taglio per DASEK: manometro PCE-910 (PCE instruments)

## OBIETTIVO:

**Verificare la correlazione tra pressione di taglio e profondità del taglio eseguito.**



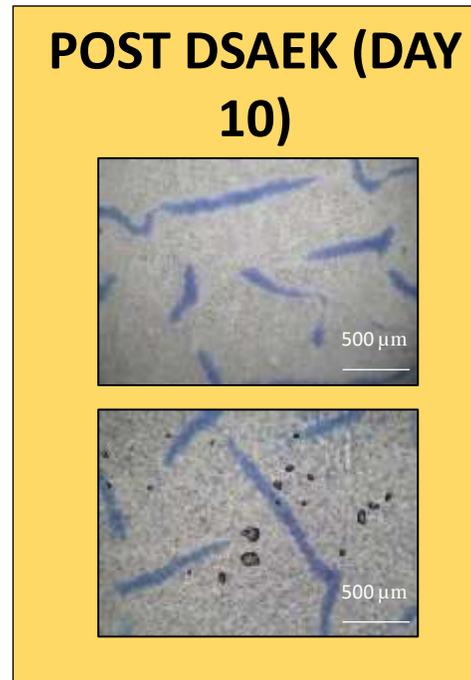
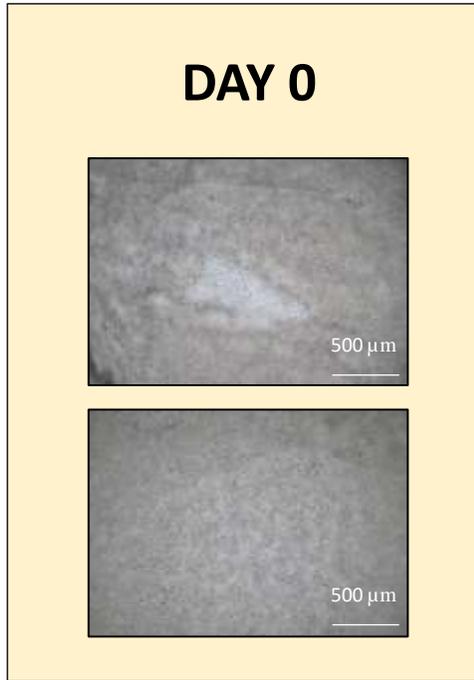
## RISULTATO:

**Alle pressioni registrate per il taglio di 15 tessuti, NON si è evidenziata correlazione tra profondità di taglio e spessore.**

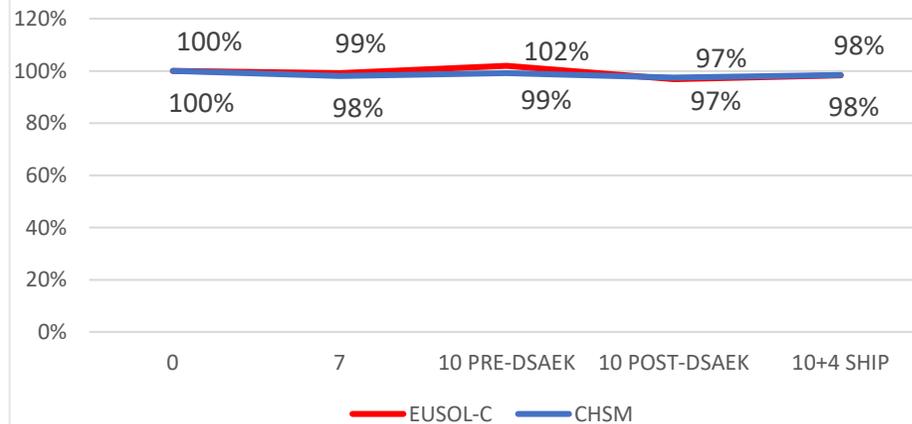
# VALUTAZIONI DI QUALITÀ ENDOTELIALE

MORTALITÀ  
ENDOTELIALE

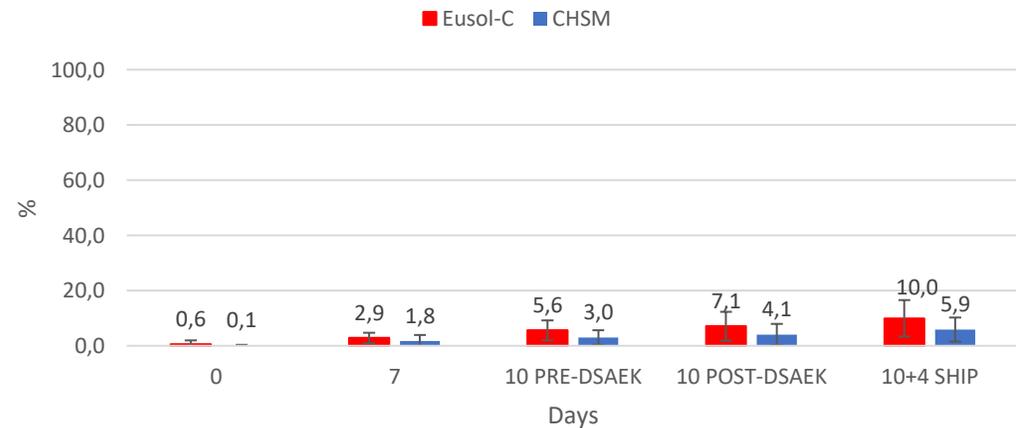
EUSOL-C  
4°C  
CHSM  
4°C



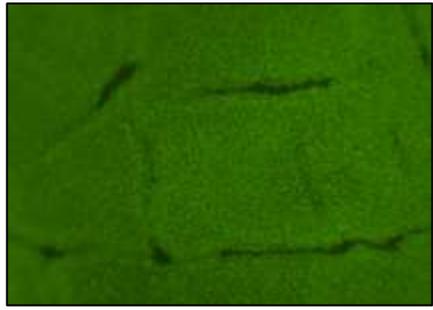
ECD - Light Microscopy



Mortalità Endoteliale

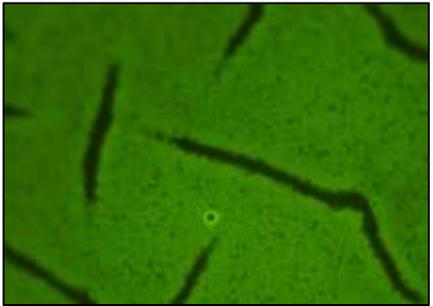


# MONITORAGGIO QUANTITATIVO DELLA MORTALITÀ ENDOTELIALE



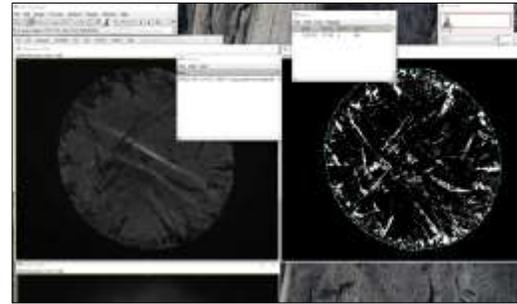
1

Unica colorazione con **Calcein-AM** sull'intera cornea e **prima valutazione di mortalità**



2

Preparazione della DSAEK e **valutazione** dell'intero tessuto (mortalità della DSAEK)



Analisi automatica e **quantitativa** dei dati con FIJI



3

Valutazione dell'aumento della mortalità **post DSAEK**

# VALUTAZIONI DI QUALITÀ ENDOTELIALE

Vital dye staining of endothelium shows reduced cell death due to folds

Example 1

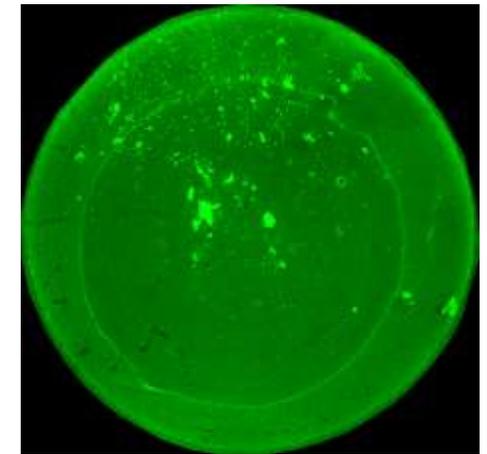
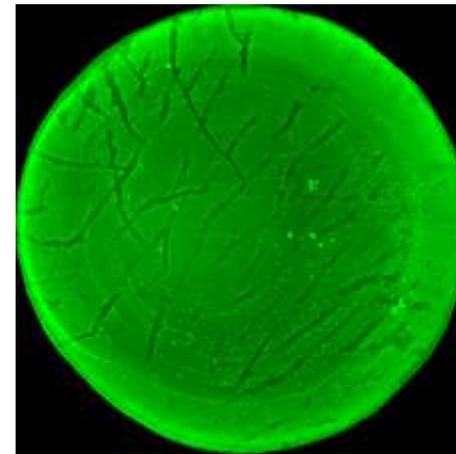
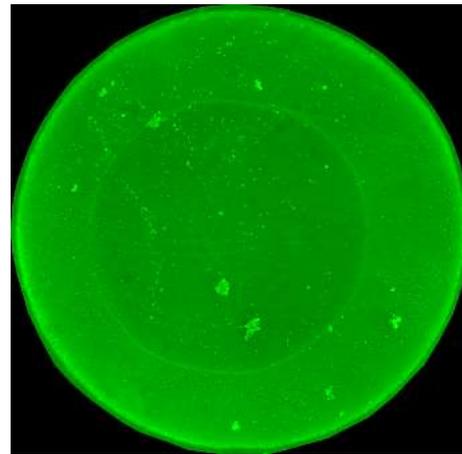
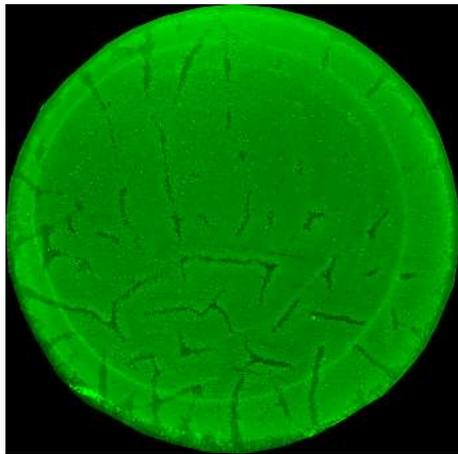
Example 2

Optisol-GS

CHSM

Optisol-GS

CHSM



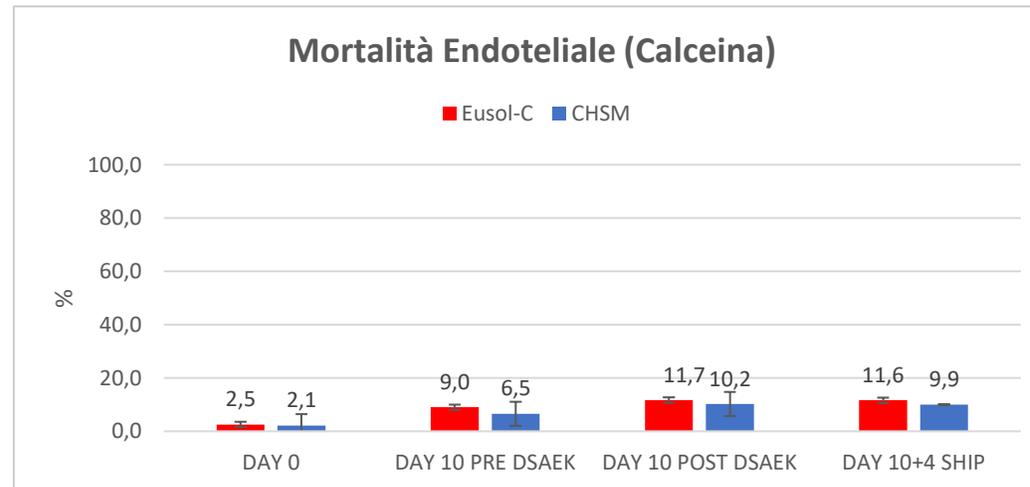
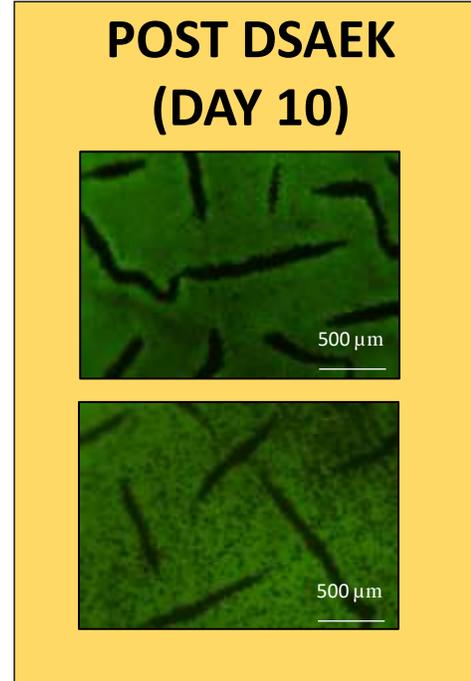
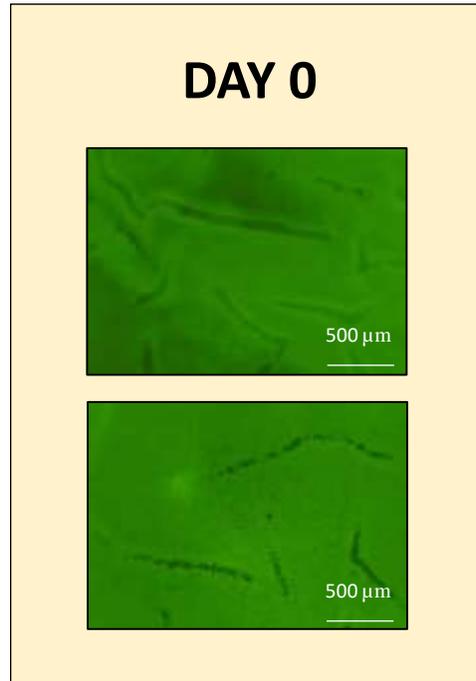
Lack of folds in the stroma/endothelium reduces amount of cell death present at day 28.

**CHSM è in grado di ridurre la mortalità endoteliale delle cornee conservate in 20 mL a 4°C fino a 28 giorni.**

# VALUTAZIONI DI QUALITÀ ENDOTELIALE

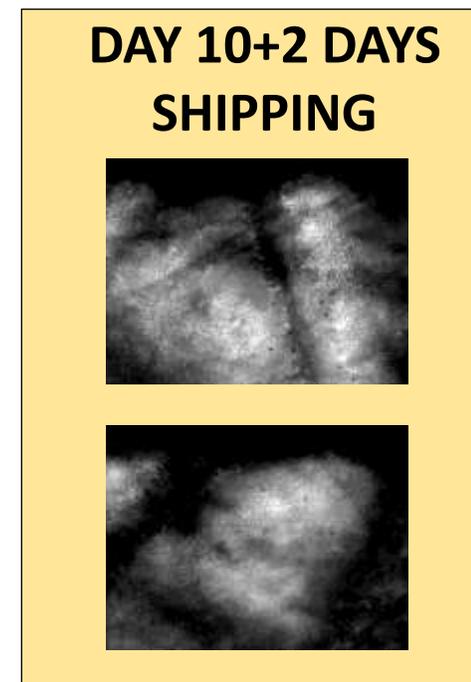
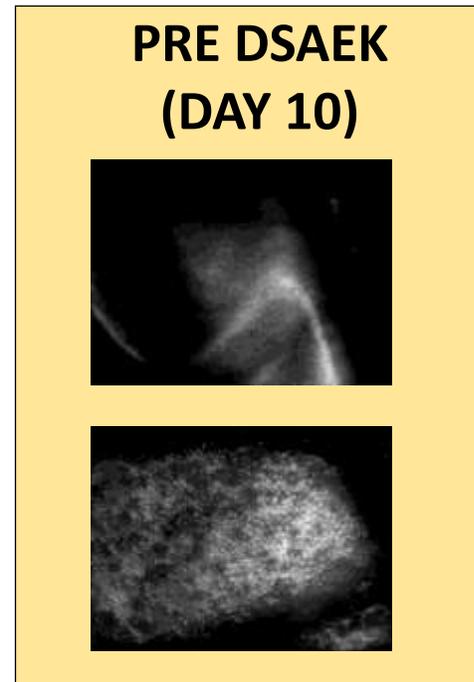
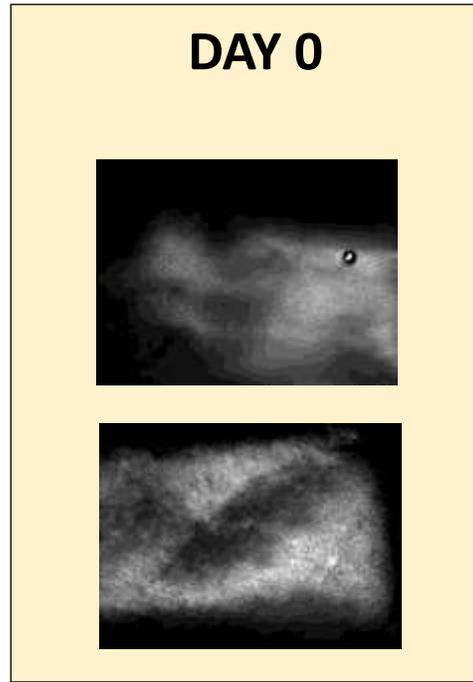
## MORTALITÀ ENDOTELIALE

EUSOL-C  
4°C  
CHSM  
4°C

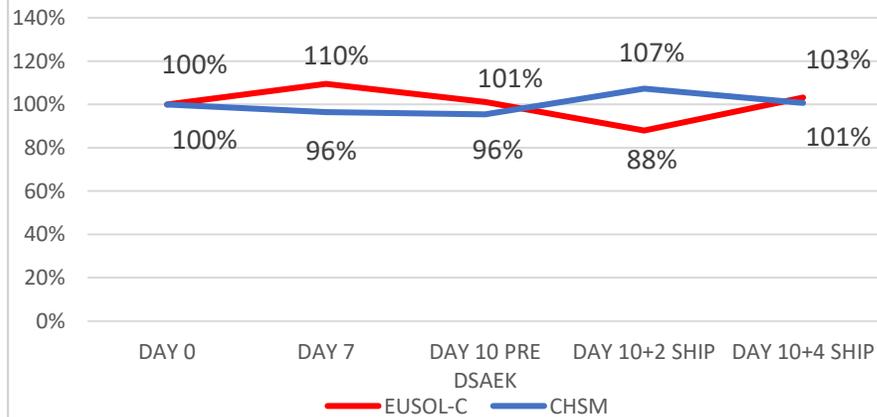


# VALUTAZIONI DI QUALITÀ ENDOTELIALE

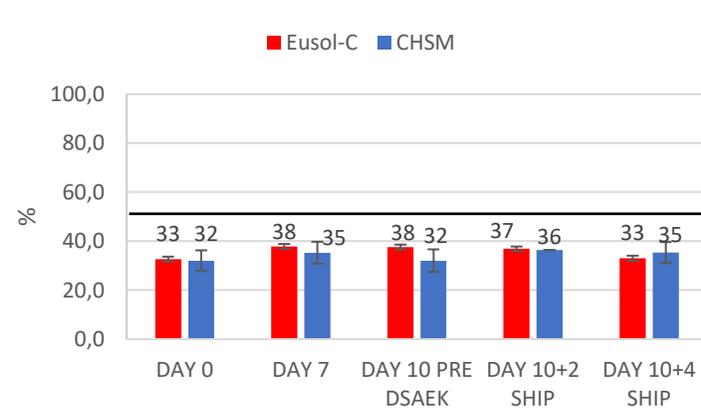
## Valutazioni Microscopio Speculare



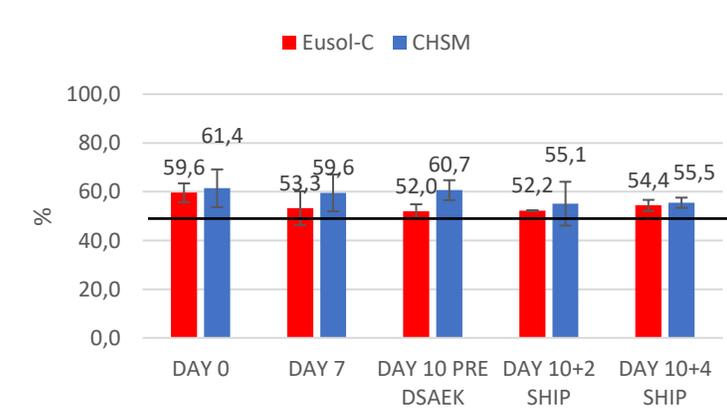
**ECD - Specular Microscopy**



**CV%**



**HEX%**



# Conclusioni

# CONCLUSIONI

## CHSM ha permesso:

**Il mantenimento dei parametri di qualità della cornea (ECD, variazione di ECD, mortalità endoteliale, morfologia endoteliale, CV% e HEX%) durante la conservazione ipotermica e la simulazione della spedizione del trapianto DSAEK, comparabile a Eusol-C.**

**Di eseguire con successo la preparazione tessuto per DSAEK.**

**Di mantenere lo spessore durante la simulazione di spedizione del tessuto per DSAEK dopo la preparazione della UT-DSAEK.**

# PASSI FUTURI

Misurare i parametri di qualità endoteliale dei lembi per DSAEK conservati in CHSM utilizzando altri metodi di trasporto:

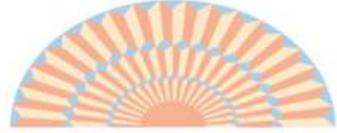


**Cornea Intera**



**DSAEK Precaricata**

# RINGRAZIAMENTI



**FONDAZIONE BANCA DEGLI OCCHI**  
DEL VENETO - ETS

## **Ricerca e Sviluppo:**

Alessandro Ruzza

Stefano Ferrari

Diego Ponzin



**ALCHIMIA**

a **Moria** Company

## **Ricerca e Sviluppo:**

Umberto Rodella

Orietta Rossi

Claudio Gatto

Laura Giurgola

Jana D'Amato Tothova



GRAZIE PER L'ATTENZIONE



**FONDAZIONE BANCA DEGLI OCCHI**  
DEL VENETO - ETS

**ALCHIMIA**  
a **Moria** Company