



Riepilogo comunicazione

Risposta al messaggio:	2025003194 - 20/03/2025 15:10
ID invio:	2025003783
Data:	31/03/2025 07:52
Stato:	Inviata
Mittente:	Ministero della Salute (10128)
Destinatario:	Fondazione Banca degli Occhi del Veneto Onlus (1306148)
Progetto:	5M-2021-23683270 - CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA E STRUTTURALE DI LENTICOLI STROMALI OTTENUTI POST-SMILE PER CHERATOPLASTICA ADDITIVA
Tipo:	Rendicontazione economica
Oggetto:	5xMille 2021 - RENDICONTAZIONE ECONOMICA del progetto CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA E STRUTTURALE DI LENTICOLI STROMALI OTTENUTI POST-SMILE PER CHERATOPLASTICA ADDITIVA
Messaggio:	ESITO POSITIVO Il Referente Amministrativo Dott.ssa Tiziana Mattina Il Coordinatore Tecnico-scientifico dell'ufficio 3 Dott. Giuseppe Gervasi
Tipo messaggio	Messaggio di accettazione

Rendicontazione economica	Voci di spesa	Importi (in Euro)
	Personale di ricerca	90.000,00
	Apparecchiature	0,00
	Materiale uso destinato alla ricerca	55.000,00
	Spese di organizzazione	10.000,00
	Elaborazione dati	0,00
	Spese amministrative	0,00
	Altro (indicare quali)	29.447,29
	Totale	184.447,29



RENDICONTO DI SPESA - FONDI 5 PER MILLE 2021
FONDAZIONE BANCA DEGLI OCCHI DEL VENETO ETS

PROGETTO

CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA E STRUTTURALE DI LENTICOLI STROMALI OTTENUTI POST-
SMILE PER CHERATOPLASTICA ADDITIVA

VOCE DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	138.034,04	90.000,00
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)	-	-
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per lab. ricerca, acquisto farmaci ecc.)	74.394,90	55.000,00
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi e missioni ecc.)	13.852,61	10.000,00
Elaborazione dati	-	-
Spese amministrative	-	-
Altro (manutenzioni, analisi e trasporti speciali)*	43.376,05	29.447,29
TOTALE	269.657,60	184.447,29

Importi comprensivi di IVA (Iva indetraibile pro rata)

* Analisi microbiologiche - Altre analisi - Trasporto con corrieri - Manutenzioni macchinari/hardware e software


FONDAZIONE
BANCA DEGLI OCCHI
DEL VENETO - ETS



Ministero della Salute



WORKFLOW DELLA RICERCA 2.0

Riepilogo comunicazione

Risposta al messaggio:	2025003193 - 20/03/2025 15:10
ID invio:	2025003782
Data:	31/03/2025 07:52
Stato:	Inviata
Mittente:	Ministero della Salute (10128)
Destinatario:	Fondazione Banca degli Occhi del Veneto Onlus (1306148)
Progetto:	5M-2021-23683270 - CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA E STRUTTURALE DI LENTICOLI STROMALI OTTENUTI POST-SMILE PER CHERATOPLASTICA ADDITIVA
Tipo:	Relazione finale
Oggetto:	5xMille 2021 - RELAZIONE SCIENTIFICA FINALE - Progetto: Caratterizzazione biologica e strutturale di lenticoli stromali ottenuti post-smile per cheratoplastica additiva
Messaggio:	ESITO POSITIVO Il Referente Amministrativo Dott.ssa Tiziana Mattina Il Coordinatore Tecnico-scientifico dell'ufficio 3 Dott. Giuseppe Gervasi
Tipo messaggio	Messaggio di accettazione

Stato progetto:	Relazione finale
-----------------	------------------



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Fondi 5 per mille ANNO 2021
Abstract ed elenco pubblicazioni scientifiche

Ente della Ricerca Sanitaria

Denominazione Ente: **Fondazione Banca degli Occhi del Veneto ETS**

Codice fiscale: **02320670272**

Sede legale: **Via Paccagnella 11, 30174 Zelarino (Venezia)**

Indirizzo di posta elettronica dell'ente: fbov@pec.fbov.it

Dati del rappresentante legale: dott. Diego Ponzin – Presidente del Consiglio di Amministrazione, nato il 13 giugno 1961 a Carrara S. Giorgio (PD).

C. F. PNZDGI61H13B833G

Titolo del progetto: Caratterizzazione biologica e strutturale di lenticoli stromali ottenuti post-smile per cheratoplastica additiva

INTRODUZIONE

Il cheratocono è una patologia progressiva e degenerativa della cornea che porta a un assottigliamento e una deformazione conica della sua struttura, causando un astigmatismo irregolare e una riduzione della qualità visiva. L'insorgenza avviene generalmente tra la pubertà e i 20 anni, con una progressione che può protrarsi fino ai 40 anni. La causa esatta rimane sconosciuta, ma si ipotizzano fattori genetici e ambientali, tra cui lo sfregamento continuo degli occhi e la predisposizione atopica.

Le opzioni terapeutiche variano in base alla gravità della patologia. Nelle fasi iniziali si utilizzano occhiali e lenti a contatto per correggere l'astigmatismo irregolare, mentre nei casi di progressione viene impiegato il cross-linking corneale per stabilizzare la malattia. Tecniche chirurgiche come l'impianto di anelli intrastromali possono ridurre la curvatura corneale, mentre nei casi avanzati si ricorre alla cheratoplastica lamellare o penetrante. Tuttavia, il trapianto di cornea è associato a complicazioni come il rigetto, l'infezione e un elevato astigmatismo postoperatorio.

Recentemente, si è sviluppato un interesse per la cheratoplastica additiva, che utilizza tessuto stromale per ripristinare lo spessore corneale nei pazienti con cheratocono. La tecnica SMILE (Small Incision Lenticule Extraction) ha aperto nuove prospettive in questo campo. Questo intervento, impiegato nella chirurgia refrattiva per correggere miopia e astigmatismo, prevede l'estrazione di un lenticolo corneale mediante laser a femtosecondi. La possibilità di preservare e

riutilizzare questi lenticoli ha dato origine a nuovi studi sulla loro applicazione nella chirurgia additiva.

SCOPO DEL PROGETTO

Il presente progetto ha come obiettivo la conservazione, caratterizzazione e validazione dell'uso clinico dei lenticoli stromali ottenuti post chirurgia SMILE per la cheratoplastica additiva nei pazienti con cheratocono. In particolare, si propone di:

- Stabilire un protocollo di biobanca per la raccolta, conservazione e distribuzione dei lenticoli corneali stromali.
- Valutare la sicurezza e l'integrità strutturale dei lenticoli sottoposti a diverse tecniche di conservazione.
- Determinare l'efficacia della cheratoplastica additiva utilizzando lenticoli conservati per il trattamento del cheratocono.

Non esiste attualmente un consenso sulla tecnica ottimale di conservazione dei lenticoli stromali corneali. L'obiettivo del nostro studio è definire un protocollo di conservazione a lungo termine che garantisca la sicurezza e l'integrità strutturale dei tessuti prima e dopo lo stoccaggio. Questo include la valutazione comparativa di diversi metodi di conservazione, come:

- Crioconservazione: metodo standard che prevede il congelamento rapido dei tessuti per preservarli a lungo termine.
- Decellularizzazione: tecnica che mira a rimuovere le cellule corneali mantenendo intatta la matrice extracellulare.
- Disidratazione: metodo che riduce il contenuto di acqua nei tessuti per aumentarne la stabilità.

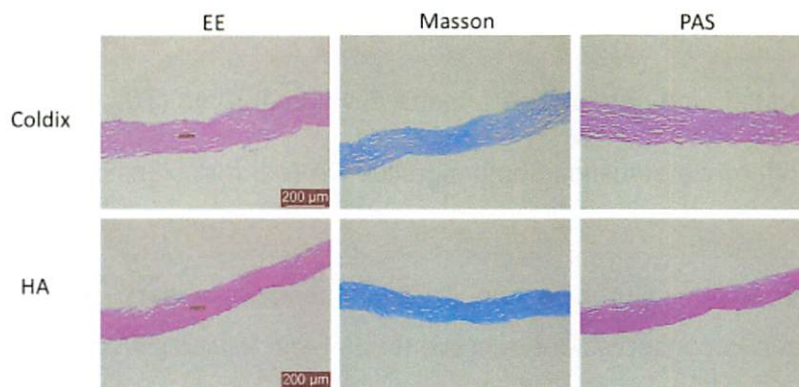
Per valutare l'integrità strutturale dei lenticoli sono state impiegate le seguenti tecniche:

- **Colorazioni istologiche**
 - **Ematossilina-eosina (EE):** utilizzata per l'analisi della morfologia cellulare e tissutale.
 - **Colorazione di Masson:** impiegata per lo studio del collagene stromale.
 - **PAS (acido periodico-Schiff):** utilizzata per evidenziare glicoproteine e mucopolisaccaridi.
- **Analisi dello spessore**
 - La tomografia a coerenza ottica è stata utilizzata per misurare lo spessore dei lenticoli e valutare eventuali variazioni strutturali dopo la conservazione.
- **Valutazione della trasparenza**
- **Valutazione del diametro**

Risultati

1) Analisi istologica- lenticoli freschi

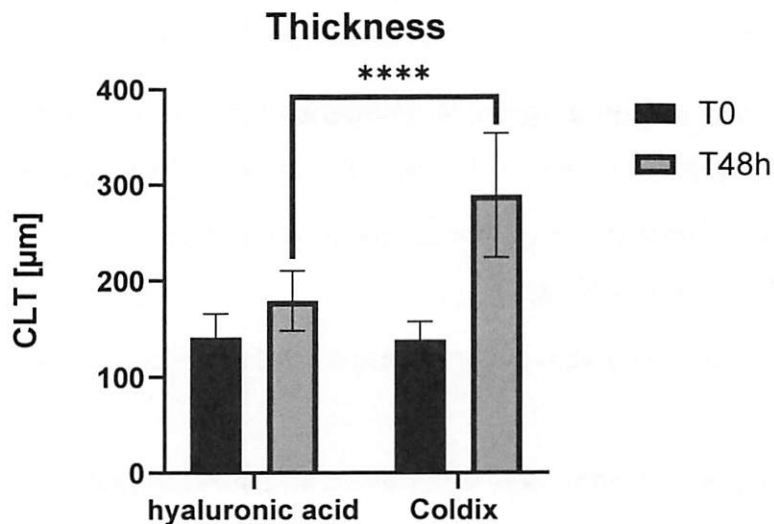
- Le analisi istologiche mostrano una **struttura stromale omogenea** nei lenticoli conservati sia in **Coldix** che in **HA**, senza alterazioni evidenti della disposizione delle fibre collagene.
- I campioni colorati con **PAS** hanno mostrato una distribuzione uniforme delle glicoproteine, confermando l'integrità della matrice extracellulare.
- La colorazione **Masson** ha evidenziato una buona organizzazione delle fibre di collagene in entrambi i gruppi.
- **I lenticoli conservati in Coldix presentavano aree con bolle d'aria intrastromali.**
- **I lenticoli conservati in HA risultavano più compatti e uniformi**, con una distribuzione più regolare delle fibre di collagene e un'assenza di bolle d'aria.



2) Variazione dello Spessore dei Lenticoli

L'analisi dello spessore corneale con AS-OCT dei lenticoli conservati ha mostrato un aumento significativo nel tempo. Il confronto tra i campioni conservati in acido ialuronico e Coldix ha evidenziato differenze rilevanti, con un incremento dello spessore più marcato nei lenticoli immersi in Coldix dopo 48 ore.

- A T0 (tempo iniziale), i lenticoli nei due mezzi mostravano spessori simili.
- Dopo 48 ore (T48h), i lenticoli conservati in Coldix hanno mostrato un aumento significativo dello spessore ($p < 0.0001$, indicato da **** nel grafico), rispetto a quelli conservati in acido ialuronico.
- Questo dato suggerisce che il Coldix potrebbe influenzare l'idratazione e la struttura del tessuto stromale più dell'acido ialuronico, aspetto da tenere in considerazione nella scelta del mezzo di conservazione ottimale.



3) Valutazione della Trasparenza nei Diversi Mezzi di Conservazione

L'analisi della trasparenza dei lenticoli stromali conservati in acido ialuronico e Coldix ha evidenziato che entrambi i mezzi mantengono un'elevata trasparenza del tessuto dopo 48 ore di conservazione.

- La trasparenza è stata misurata come percentuale rispetto al valore iniziale (T0).
- Non sono state osservate differenze statisticamente significative (*ns*, non significativo) tra i due gruppi.
- I dati suggeriscono che sia l'acido ialuronico che il Coldix possano essere considerati opzioni valide per il trasporto e la conservazione a breve termine dei lenticoli stromali.

L'analisi della trasparenza dei lenticoli stromali conservati in **acido ialuronico (HA)** e **Coldix** ha mostrato che entrambi i mezzi mantengono un'elevata trasparenza del tessuto dopo 48 ore di conservazione.

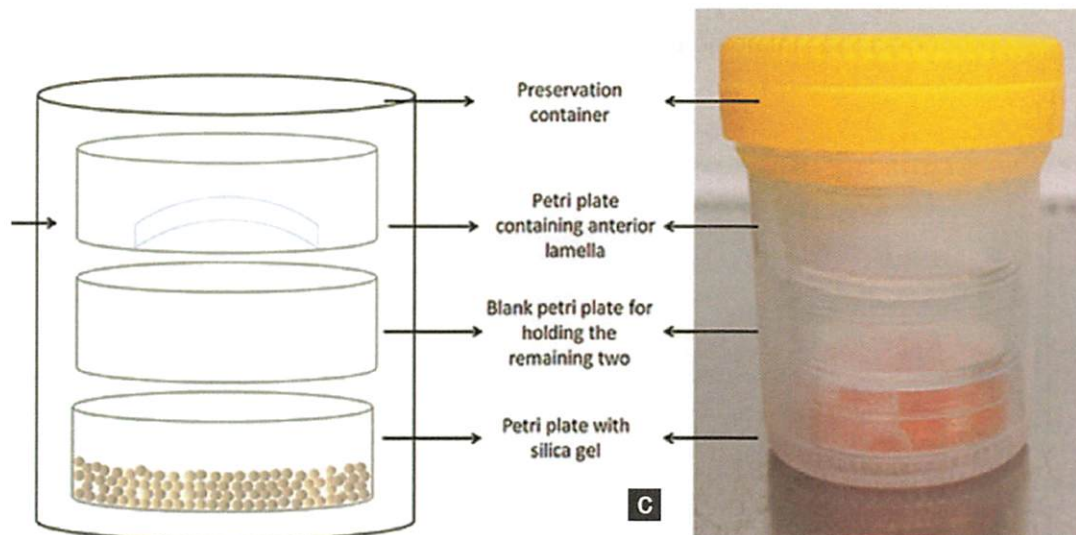
- La trasparenza è stata misurata come percentuale rispetto al valore iniziale (T0).
- Non sono state osservate differenze statisticamente significative (*ns*, non significativo) tra i due gruppi.
- I dati suggeriscono che sia l'acido ialuronico che il Coldix possano essere considerati opzioni valide per il trasporto e la conservazione a breve termine dei lenticoli stromali.

Metodi di Conservazione dei Lenticoli

1) Disidratazione:

La conservazione dei lenticoli corneali è essenziale per garantirne la stabilità strutturale. Abbiamo seguito un protocollo di disidratazione controllata in condizioni specifiche, con l'obiettivo di mantenere l'integrità del tessuto corneale per applicazioni future. Il nostro protocollo prevede i seguenti punti:

- I lenticoli vengono posizionati su una base in **silicone bianco**.
- Sono stati lasciati asciugare sotto cappa per **1,5 ore** per garantire un'adeguata disidratazione.

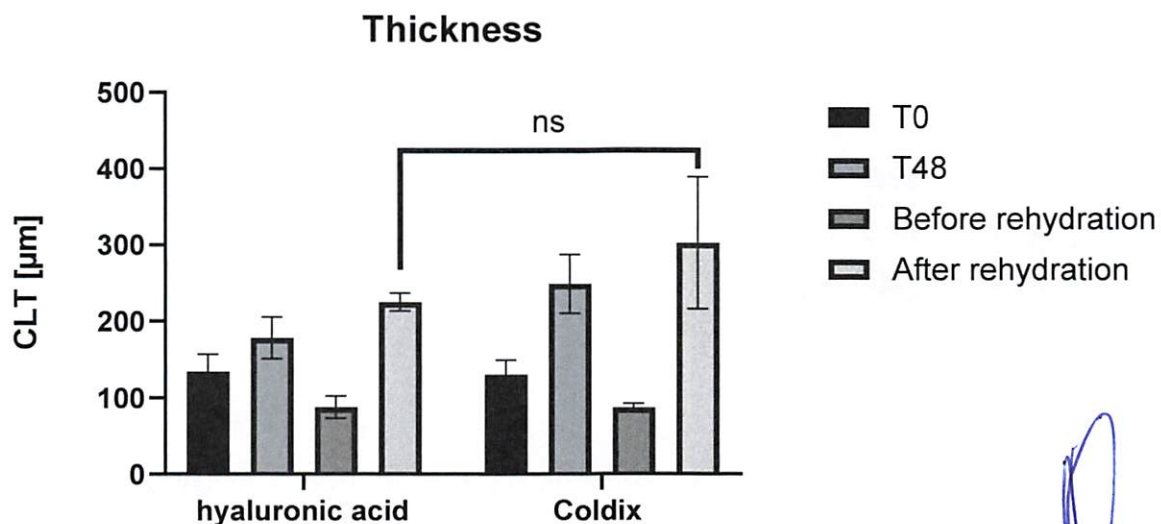


- I lenticoli sono stati messi in un **contenitore di conservazione** composto da:
 - Una **Petri dish contenente il lenticolo** (strato superiore).
 - Una **Petri dish vuota** utilizzata come supporto (strato intermedio).
 - Una **Petri dish con gel di silice** per assorbire l'umidità residua (strato inferiore).
- Il contenitore viene sigillato per prevenire contaminazioni e mantenere l'ambiente di conservazione stabile.

Condizioni di Conservazione

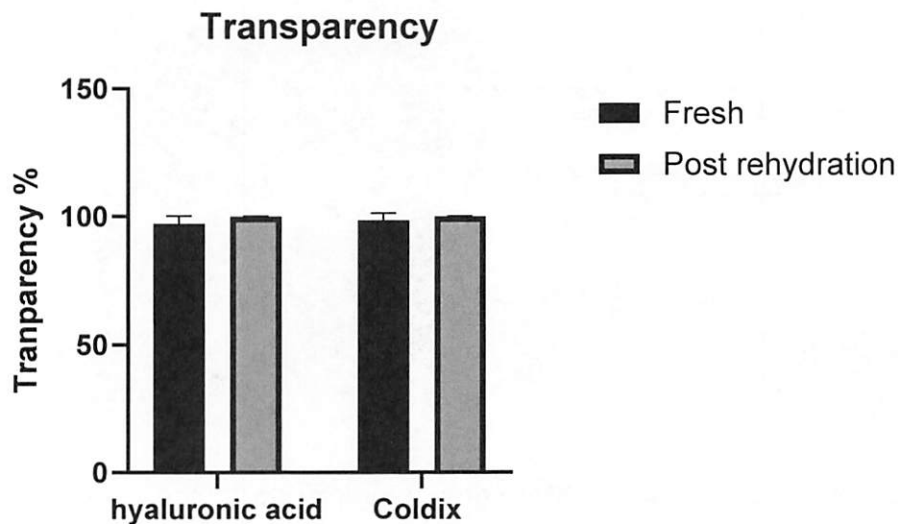
- I lenticoli sono stati conservati a una temperatura di **2-8°C** per un periodo di **14 giorni**.

Risultati



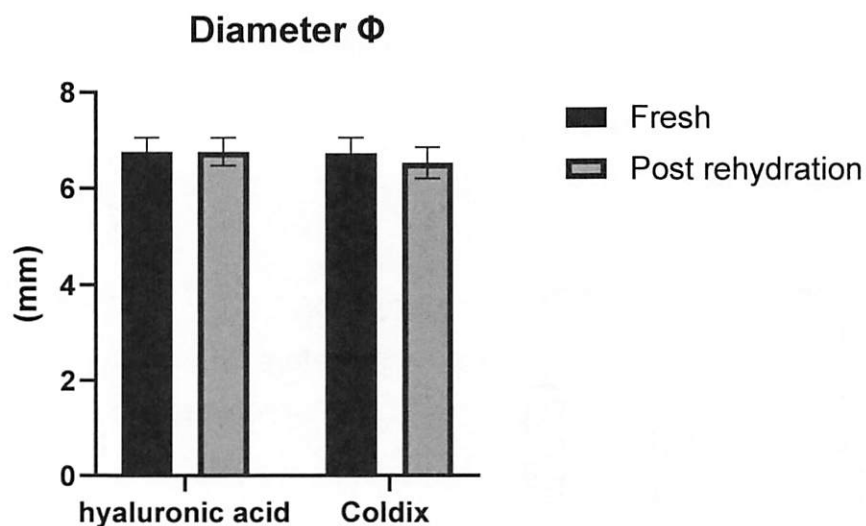
Handwritten signature and initials.

- Dopo la disidratazione, i lenticoli trattati con **acido ialuronico** e **Coldix** hanno mostrato una riduzione dello spessore rispetto allo stato fresco.
- Dopo la reidratazione (dopo 48h), entrambi i gruppi hanno recuperato lo spessore iniziale.
- La differenza tra i due metodi di conservazione non è risultata significativa (**ns**), suggerendo che entrambi siano efficaci nel mantenere la struttura.



- La trasparenza dei lenticoli è rimasta invariata dopo la reidratazione rispetto allo stato fresco.
- Non si sono osservate differenze tra i gruppi trattati con **acido ialuronico** e **Coldix**, indicando una buona conservazione delle proprietà ottiche del tessuto.

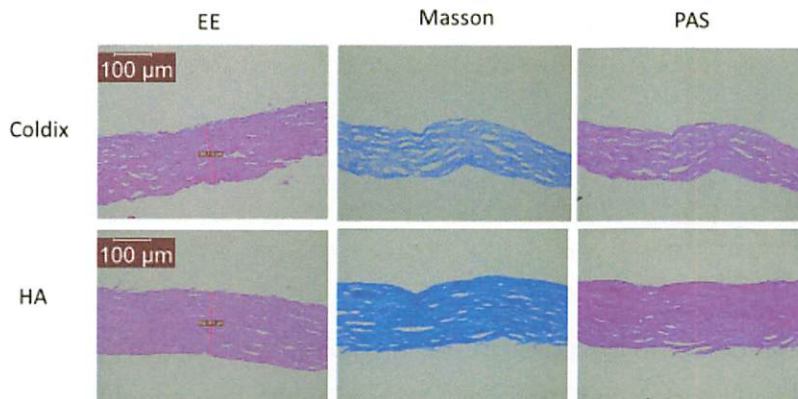
Diametro:



- Il diametro dei lenticoli non ha subito variazioni significative dopo la reidratazione rispetto allo stato fresco.

- Questo conferma che il processo di disidratazione e successiva reidratazione non altera la geometria del tessuto.

Istologia:



- L'analisi istologica con colorazioni **EE**, **Masson** e **PAS** ha evidenziato una **struttura conservata** in entrambi i gruppi.
- Non sono state osservate alterazioni significative della disposizione delle **fibre stromali** e della **matrice extracellulare**.
- Le immagini istologiche mostrano una **struttura omogenea**, senza segni di degenerazione cellulare o alterazioni della matrice collagenica, con una struttura più compatta nel gruppo HA

2) Crioconservazione in DMSO

La crioconservazione con **DMSO** consente di preservare il tessuto corneale mantenendo la vitalità cellulare e la struttura della matrice extracellulare. Il DMSO agisce come crioprotettore, riducendo il danno da formazione di cristalli di ghiaccio durante il congelamento e lo scongelamento.

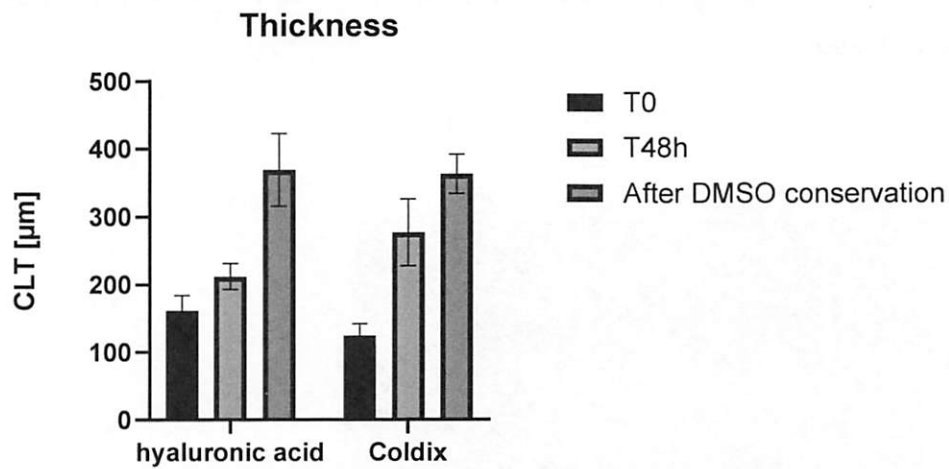
Protocollo

1. Per la crioconservazione è stata utilizzata una soluzione composta da:
 - **80% Terreno di Coltura (BASE-Alchimia)**
 - **10% DMSO**
 - **10% Albumina Umana**
2. I lenticoli sono stati messi in vapori di azoto, dopodiché in frigo a -80°.

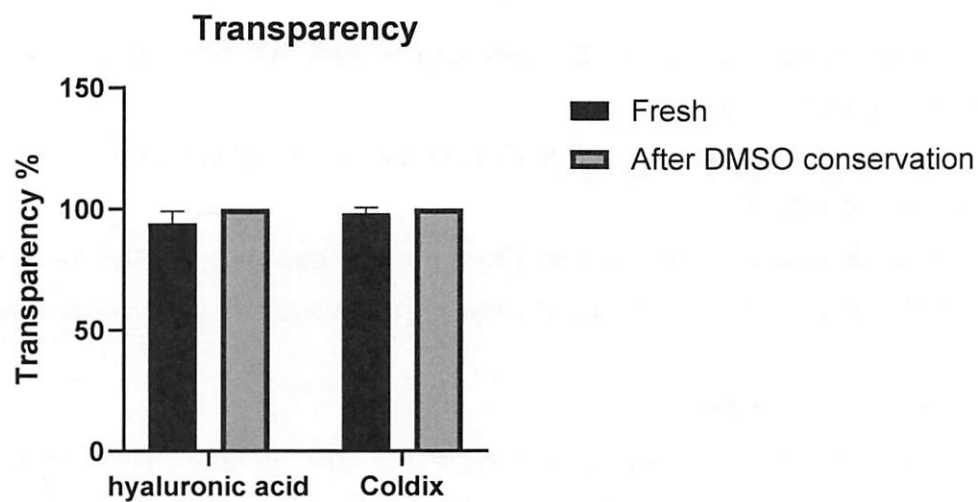
Risultati:

- **Spessore:** Dopo la crioconservazione in **DMSO**, i lenticoli hanno mantenuto uno spessore stabile sia nel gruppo **acido ialuronico** che nel gruppo **Coldix**.

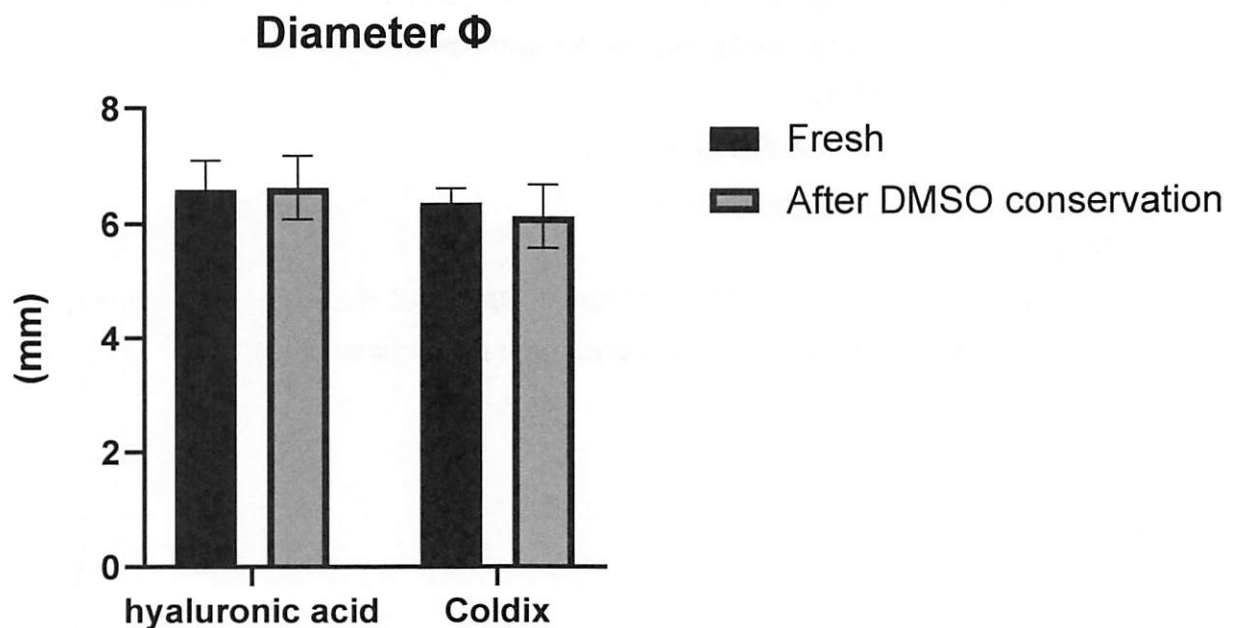
[Handwritten signature]



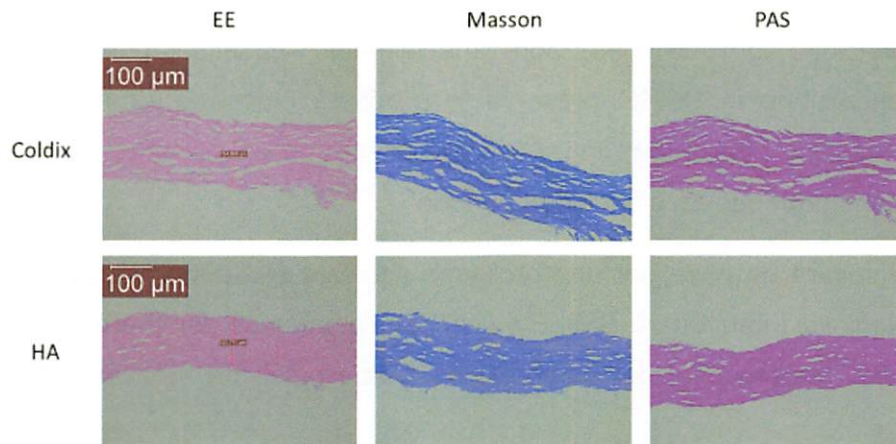
- **Trasparenza:** Dopo lo scongelamento, la trasparenza dei lenticoli è risultata **paragonabile a quella dei lenticoli freschi**, indicando che il protocollo ha preservato le proprietà ottiche.



- **Diametro:** Il diametro dei lenticoli non ha subito modifiche significative dopo la crioconservazione e lo scongelamento.



- **Istologia:** L'analisi istologica con colorazioni **EE, Masson e PAS** ha mostrato **una struttura conservata**, senza segni di alterazioni della disposizione delle fibre stromali o della matrice extracellulare.



Gli esperimenti hanno dimostrato che:

- **Struttura e istologia:** I lenticoli conservati sia in Coldix che in acido ialuronico (HA) mantengono una struttura stromale omogenea senza alterazioni evidenti delle fibre collagene. Tuttavia, i lenticoli in Coldix presentano alcune bolle d'aria intrastromali, mentre quelli in HA risultano più compatti e uniformi.
- **Variazione dello spessore:** Dopo 48 ore, i lenticoli conservati in Coldix hanno mostrato un aumento significativo dello spessore rispetto a quelli in HA, suggerendo che Coldix influenzi maggiormente l'idratazione del tessuto.
- **Trasparenza:** Entrambi i metodi di conservazione (Coldix e HA) mantengono un'elevata trasparenza del tessuto dopo 48 ore, senza differenze statisticamente significative tra i due gruppi.
- **Effetto della disidratazione e reidratazione:** Dopo la reidratazione, lo spessore dei lenticoli aumenta, con un effetto più marcato nei campioni conservati in Coldix. Tuttavia, il diametro e la trasparenza rimangono invariati, suggerendo una buona stabilità strutturale del tessuto.
- **Crioconservazione in DMSO:** La conservazione con DMSO ha portato a un aumento dello spessore del tessuto, particolarmente evidente nei campioni trattati con Coldix. Dopo lo scongelamento, la trasparenza è risultata comparabile a quella dei lenticoli freschi, e non sono state osservate alterazioni significative della struttura stromale.
- **Studi clinici per valutare la sicurezza e l'efficacia della cheratoplastica additiva con lenticoli conservati.**

[Handwritten signature]

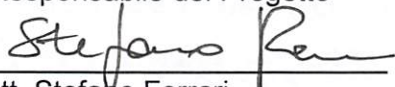
Conclusioni

Gli esperimenti confermano che i lenticoli stromali post-SMILE possono essere conservati senza comprometterne struttura e trasparenza. Coldix favorisce un maggiore ispessimento del tessuto rispetto all'acido ialuronico (HA), che invece mantiene una disposizione più uniforme delle fibre collagene. La reidratazione aumenta lo spessore, specialmente nei campioni conservati in Coldix, mentre la crioconservazione in DMSO preserva le proprietà ottiche e strutturali dei lenticoli. Entrambi i mezzi risultano validi per la conservazione a breve termine, mentre il DMSO rappresenta un'opzione promettente per il lungo periodo.

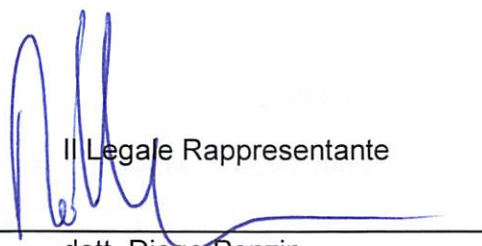
Questa validazione servirà da base per una prossima richiesta al Centro Nazionale Trapianti di poter conservare il lenticoli ottenuti post SMILE e distribuirli a chirurgia per cheratoplastica additiva (per il trattamento del cheratocono, per esempio) e/o come patch da utilizzare in ambulatori a scopo tettonico.

Zelarino, 19 marzo 2025

Il Responsabile del Progetto

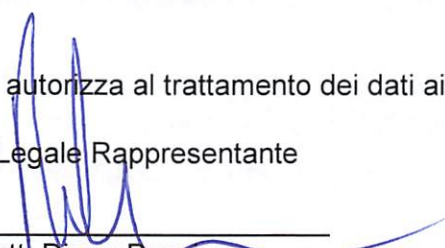

Dott. Stefano Ferrari

Il Legale Rappresentante


dott. Diego Ponzin

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante


Dott. Diego Ponzin