

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 062**

51 Int. Cl.:

A01N 1/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2013 PCT/FR2013/050530**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14140434**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2013 E 13716819 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017 EP 2991479**

54 Título: **Dispositivo médico de preservación de una córnea**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.02.2018

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ JEAN-MONNET (33.3%)
10 rue Tréfilerie
42100 Saint Etienne, FR;
ECOLE NATIONALE D'INGÉNIEURS DE SAINT
ETIENNE (33.3%) y
ETABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG (33.3%)**

72 Inventor/es:

**GAIN, PHILIPPE;
THURET, GILLES;
LAVERNE-ACQUART, SOPHIE y
SOUBAIGNE, SÉBASTIEN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 656 062 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo médico de preservación de una córnea

La invención se relaciona con el sector técnico de los dispositivos médicos destinados, bien a la preservación de larga duración de una córnea, en vistas, especialmente, a un trasplante, o bien a la experimentación *ex vivo* sobre córnea humana o animal.

Según el estado de la técnica, los injertos de córnea son preservados en el mundo principalmente de dos maneras: bien a +4 °C durante un tiempo corto (máximo 10 días) en una técnica denominada "preservación en frío (cold storage)", o bien según la técnica llamada de organocultivo, a una temperatura de entre +31 °C y +37 °C. El organocultivo utiliza un medio nutritivo derivado de los medios de cultivo celular que permite una preservación de larga duración, hasta cinco semanas. Se trata de una técnica secuencial que comprende una primera parte durante la cual la córnea se vuelve edematosa (su espesor se duplica, pasando de 500-600 µm a 1000-1200 µm) y se plisa en correspondencia con su cara posterior, y una segunda parte, que dura de 12 a 72 horas, durante la cual el injerto está inmerso en el mismo medio de organocultivo, pero con adición de una macromolécula (Dextran T500 o poloxamer 188) que ejerce una deturgencia del injerto para reducir su espesor y disminuir el plisado posterior justo antes del trasplante.

En estas dos técnicas, los injertos están inmersos, bien en simples frascos de vidrio o de material plástico en los cuales la córnea queda libre, o bien en cajas donde la córnea queda parcialmente inmovilizada dentro de una celda o una cesta (tal como un estuche de lente de contacto). En ambos casos, no hay circulación de medio de preservación, ni mantenimiento de un gradiente de presión a ambos lados de la córnea.

Ahora bien, para preservarse de manera óptima, el injerto debe serlo en condiciones similares a las que se dan en su entorno fisiológico. Los parámetros fisiológicos que han de reproducirse son especialmente los de la cámara anterior del ojo, a saber, una presión intraocular que es del orden de 18 milímetros de mercurio (mmHg) y una temperatura del orden de 31 a 37 °C, por ejemplo, para un ojo humano, y una circulación de un líquido de preservación de la córnea a la vez por el lado endotelial (que imita la renovación permanente del humor acuoso) y por el lado epitelial (que imita la circulación permanente de las lágrimas). Si no se reproducen estas condiciones, las células de la córnea mueren de manera acelerada, en particular en las zonas de pliegues posteriores, y el estroma corneal se vuelve edematoso y pierde temporalmente su transparencia.

La patente estadounidense US 5.789.240 describe un dispositivo de montaje de córneas que simula la cámara anterior del ojo. Este dispositivo permite reproducir los parámetros de presión intraocular, de temperatura y de circulación de líquido intraocular, pero únicamente está destinado a la experimentación en laboratorio, para realizar pruebas de penetración de medicamentos. Este dispositivo no permite la preservación de los injertos de córnea antes de un trasplante de córnea en un paciente. En particular, no permite una circulación estéril del líquido preservador sobre ambos lados de la córnea, es decir, a la vez por el lado epitelial y endotelial. No es transparente de parte a parte para permitir un análisis de la córnea sin abrir el dispositivo. De este modo, el tiempo de supervivencia de la córnea es forzosamente corto e incompatible con una utilización para un trasplante de córnea.

La patente francesa 2944185 describe una "cámara de perfusión" para córnea, destinada a estar únicamente en posición vertical, para imitar el flujo de las lágrimas. También esta cámara de perfusión está destinada a la experimentación en laboratorio, especialmente a los estudios de toxicidad preclínicos, pero no a la preservación de los injertos de córnea previa al trasplante. Incluye un compartimento endotelial destinado a llenarse de gel para mantener la forma de la córnea, pero no incluye circulación de líquido nutritivo por el lado endotelial. No incluye un sistema de mantenimiento de un gradiente de presión a ambos lados de la córnea. No es transparente de parte a parte.

El artículo del British Journal of Ophthalmology 2001; 85:450-3 "A simple corneal perfusion chamber for drug penetration and toxicity studies" da a conocer una cámara de policarbonato desarrollada para recibir una córnea humana, pero únicamente se ha ensayado con córneas de cerdos y de gatos. Comprende una circulación en circuito cerrado del líquido movilizado por una bomba peristáltica. El mantenimiento de un gradiente de presión de 18 mmHg se obtiene por gravedad (frasco que contiene el líquido de perfusión puesto en altura). El epitelio corneal está en contacto con el aire y el compartimento epitelial no es estanco. No es transparente de parte a parte. Esta cámara de perfusión tampoco está destinada a la preservación de las muestras corneales previa al trasplante.

Además, ninguno de los dispositivos de la técnica anterior permite aplanar la córnea para permitir la realización de mecanizado láser del tejido corneal o facilitar la observación de las células endoteliales sobre una superficie plana. En el estado actual de la técnica, las córneas son cortadas con láser femtosegundo sobre soportes específicos que no son los capacitados para asegurar la preservación de los injertos. En el estado de la técnica anterior, los injertos deben extraerse de su medio de preservación, ubicarse manualmente sobre un soporte específico expuesto al aire libre y ubicarse a continuación bajo el sistema de corte con láser. Para aplanar la córnea, es necesario utilizar otro dispositivo vinculado al propio láser y no tanto al soporte de la muestra corneal.

Finalmente, ninguno de los dispositivos de la técnica anterior reivindica la posibilidad de realización de una terapia

celular del injerto.

5 En lo referente a la utilización de los dispositivos de la técnica anterior para la experimentación *ex vivo* referida a la penetración de moléculas y los estudios de toxicidad, ninguno aúna las siguientes características: permitir la preservación en condiciones de esterilidad de las córneas humanas o animales a muy largo plazo (varias semanas), incluir un gradiente de presión por el lado endotelial, incluir una circulación de líquido a ambos lados de la córnea, ser transparente de parte a parte, tener un dispositivo de aplanación de la córnea.

La invención se ha fijado como propósito subsanar estos inconvenientes de una manera simple, segura, eficaz y racional.

10 El problema que la invención se propone solucionar es, pues, realizar un dispositivo de preservación de larga duración de una córnea humana que permita:

- una circulación estéril de un líquido de preservación por ambos lados de la córnea, creando un gradiente de presión ambos lados de la córnea con una sobrepresión del lado endotelial,
- una inspección de parte a parte de la córnea,
- 15 - una aplanación de la bóveda corneal sin abrir el biorreactor, es decir, comprometer la esterilidad de la muestra corneal.

Por lo tanto, el propósito que se pretende es mantener la córnea *ex vivo* en un estado casi fisiológico con el fin de mejorar la preservación de los injertos de córnea previa al trasplante y, subsidiariamente, para la realización de experimentaciones *ex vivo* fundamentales y/o preclínicas.

20 El dispositivo, por supuesto, no queda limitado a la preservación de la córnea o la experimentación con la córnea, en la especie humana. También permite la experimentación con córnea de cualquier especie animal cuyo diámetro de córnea difiera del humano. Siendo variables a voluntad la geometría del biorreactor (principalmente diámetro del alojamiento central de la córnea), así como las condiciones de temperaturas, de presiones y de composiciones del líquido de preservación en función de la especie animal de la córnea que haya de preservarse.

25 Para solucionar tal problema, se ha diseñado y preparado un dispositivo para la preservación de una córnea, que comprende:

- medios de recepción y de aprisionamiento de la muestra corneal, sujetos a medios de sometimiento a presión de la misma, a una presión graduable,
- medios de inyección de un líquido de preservación en disposiciones que presentan los medios de recepción y de aprisionamiento de la córnea,
- 30 - medios de aplanación de la bóveda corneal,
- medios de extracción de medio de preservación a efectos de análisis microbiológicos y/o bioquímicos, y
- medios de inyección de sustancias en el biorreactor sin tener que abrirlo.

35 La invención queda definida en las reivindicaciones. Este dispositivo es destacable por que las disposiciones que presentan los medios de recepción y de aprisionamiento de la córnea inmovilizan la córnea apresando el collar de esclera que la rodea, lo cual permite el contacto entre el líquido de preservación y las dos caras de la córnea. Quedan así delimitados dos espacios denominados cámara endotelial y cámara epitelial.

Ventajosamente, el líquido de preservación está a una temperatura comprendida entre 1 y 40 °C que cubre el rango de las temperaturas utilizadas para la preservación de las córneas en todo el mundo.

40 Ventajosamente, y para permitir una inspección en todo momento, de parte a parte, del estado de la córnea, las disposiciones que presentan los medios de recepción y de aprisionamiento de la córnea comprenden medios de inspección de parte a parte de la córnea basados en la transparencia de las piezas del biorreactor que rodean la córnea.

El dispositivo incluye tres partes:

- 45 - una primera parte que se denomina pieza intermedia, que sirve para la recepción y para el soporte de la muestra corneal y participa en su aprisionamiento con la segunda parte, que recibe el nombre de tapa endotelial. La pieza intermedia incluye un agujero central del diámetro de la córnea (variable según la especie animal). Los bordes de este agujero se prolongan en una garganta circular destinada a recibir la esclera. La muestra corneal se deposita, epitelio hacia abajo, sobre este agujero y queda retenida por su collar de esclera que descansa en esta garganta. En el borde de esta garganta, existe un reborde circular
- 50 que impide que la córnea se desplace lateralmente y salga del alojamiento así delimitado. Así, la córnea

queda centrada automáticamente sobre el agujero de la pieza intermedia.

- Una segunda parte que se denomina tapa endotelial, destinada a pasar a encajarse en la cara superior de la pieza intermedia. Esta tapa endotelial puede estar determinada a su vez a partir de dos piezas solidarias que delimitan un espacio, que se denomina cámara endotelial, por el que circula el medio de preservación en contacto con la cara endotelial de la córnea. La parte inferior de esta tapa lleva taladrado un agujero del mismo diámetro que el de la pieza intermedia. Los bordes de este agujero incluyen un relieve circular destinado a quedar en coincidencia con la garganta de la pieza intermedia para aplastar la esclera, en orden a hermetizar el contacto en correspondencia con la esclera y a separar perfectamente las cámaras endoteliales y epiteliales. Así, la córnea queda aprisionada sólidamente entre la pieza intermedia y la tapa endotelial. La parte superior de la tapa endotelial es transparente, con el fin de permitir una observación de la córnea sin tener que abrir la cámara endotelial del biorreactor.

La tapa endotelial incluye un amplio cajeado en el borde, destinado a permitir el paso de un objetivo óptico recto, de un microscopio especular, de un tomógrafo por coherencia óptica (OCT), de un láser o de cualquier otro instrumento destinado al análisis o al tratamiento de la córnea y que precise aproximarse lo más cerca posible de la córnea.

Entre la tapa endotelial y la pieza intermedia, un sistema de bloqueo progresivo mediante dos correderas inclinadas (una sobre la tapa endotelial, una sobre la pieza intermedia) permite realizar un óptimo aplastamiento del collar escleral cualquiera que sea el espesor del mismo. Estas correderas están micro-acanaladas en su superficie, lo cual aumenta el rozamiento entre las mismas y evita un desbloqueo fortuito en las manipulaciones del biorreactor.

- Una tercera parte, que se denomina tapa epitelial, pasa a enroscarse en la cara inferior de la pieza intermedia para determinar un compartimento estanco por el lado del epitelio corneal, determinando así una cámara epitelial. Esta tapa se puede aproximar a la cara epitelial de la córnea de manera graduable, permitiendo así realizar una aplanación controlada de la córnea. La superficie de aplanación puede ser plana o curva. La tapa epitelial puede estar en posición no aplanada (sin contacto con el epitelio) o en posición de aplanación mediante un dispositivo de graduación paso a paso o progresivo. La tapa epitelial es asimismo transparente, para permitir una observación de la córnea sin abrir la tapa epitelial del biorreactor. La tapa se puede quitar en la utilización experimental (y no en la preservación de muestras corneales para trasplante), por ejemplo en pruebas de instilación de colirio, de penetración de moléculas a través de la córnea. Esta apertura de la tapa epitelial no perturba el mantenimiento de la sobrepresión dentro de la cámara endotelial.

Entre estas tres partes, unas juntas de diferentes naturalezas, especialmente tórica o cuadrilobulada, de materiales biocompatibles, se encargan de la estanqueidad y del mantenimiento de la esterilidad.

Ventajosamente, las dos caras transparentes de la tapa endotelial y de la tapa epitelial están alineadas con los agujeros de las piezas intermedias y de la tapa endotelial. Así, permiten el paso sin obstáculos, de parte a parte de la córnea, de la luz, sin tener que abrir el biorreactor. Puede tratarse de la luz visible para la realización de los controles visuales o instrumentales de la córnea por un observador. A título de ejemplos no limitativos: análisis de la transparencia de la córnea (por ejemplo, mediante la usual lámpara de hendidura de los oftalmólogos), recuento de las células, en particular endoteliales, búsqueda de interfase oculta de cirugía refractiva. Puede tratarse asimismo de rayos ultravioleta, por ejemplo para realizar el entrecruzamiento del colágeno del injerto de córnea. Puede tratarse, finalmente, de haces láser destinados al análisis (por ejemplo, formación de imágenes por tomografía de coherencia óptica), a la terapia celular (activando el láser procesos biológicos en el interior de la córnea), o a la terapia tisular (cortando el láser la córnea). Finalmente, también son susceptibles de ser utilizadas a través del biorreactor otras longitudes de onda de la luz.

Ventajosamente, las dos caras de la tapa endotelial y de la tapa epitelial están realizadas en un material poco reflexivo a los ultrasonidos para permitir el análisis por ecografía de la córnea (por ejemplo, mediciones de espesor antes y después del corte con láser) sin abrir el biorreactor.

La cámara endotelial y la cámara epitelial comprenden varios orificios. Hay como mínimo, y sin carácter limitativo, al menos tres orificios en cada compartimento: un orificio de entrada de medio de preservación, un orificio de salida de medio de preservación y un orificio suplementario, llamado "técnico" (para toma de muestras de medio o inyección de sustancias). La tapa endotelial comprende asimismo un orificio destinado a recibir un sensor de presión. La tapa epitelial puede asimismo comprender uno. Los medios de sometimiento a presión y de control de la misma están realizados por intermedio de estos orificios. El orificio de entrada de líquido en la tapa endotelial se prolonga por el interior de la cámara en una canal que obliga al medio fresco a verterse lo más cerca posible del endotelio corneal.

Los orificios de entrada/salida, presentes en las dos cámaras, permiten poder hacer circular el líquido de preservación y renovarlo para optimizar la preservación de la córnea.

Estos orificios asimismo permiten hacer variar la presión en el interior de los compartimentos, en orden a tener

continuamente una sobrepresión por el lado endotelial. Esta puede ser igual a la presión que de manera fisiológica halla la córnea por el lado endotelial, o cualquier otra presión elegida. Por ejemplo, 12 a 20 mmHg para una córnea humana.

5 Esta sobrepresión se puede obtener controlando el volumen inyectado en la cámara endotelial y el volumen de líquido que sale de ella.

Por ejemplo, el medio de preservación está contenido en un depósito a presión, especialmente un infusor de membrana elastomérica o de resorte o de gas a presión. La presión se puede generar asimismo mediante una bomba de tipo peristáltica u otra.

10 En un primer ejemplo de realización, el medio a presión atraviesa un limitador de caudal de tipo capilar de vidrio, seguidamente una microelectroválvula y es inyectado en la cámara endotelial. La apertura y el cierre de la microelectroválvula se controlan mediante un controlador electrónico según una consigna predeterminada por el usuario (por ejemplo, 18 mmHg) y ajustada según la presión medida por un sensor electrónico de presión ubicado dentro de la cámara endotelial. El líquido saliente de la cámara endotelial atraviesa un segundo limitador de caudal antes de atravesar la cámara epitelial y de verterse luego en un depósito llamado "contenedor de residuos" puesto en contacto con la presión atmosférica a través de un filtro garantizador de la esterilidad.

15 En un segundo ejemplo de realización, el control de la presión es pasivo: el líquido a presión es inyectado en la cámara endotelial. Vuelve a salir y atraviesa una válvula de control llamada válvula de retención o "check valve", seleccionada para abrirse a la presión elegida, con lo que la presión dentro de la cámara endotelial se mantiene al nivel de la presión de apertura de la válvula mientras se inyecte medio.

20 Los dos orificios "técnicos" (el de la cámara endotelial y el de la cámara epitelial) permiten asimismo tomar una muestra del líquido de preservación para análisis microbiológico (control de esterilidad) o bioquímico (modificaciones de las características del medio, especialmente del pH), o bien inyectar cualquier producto durante la fase de preservación, como es un colorante (azul de tripano para el control de la mortalidad de las células) o un fármaco, o un gen por ejemplo, sin precisar de la apertura de ningún compartimento, ni de manipulación de la córnea. Esto puede permitir la realización de una terapia celular del injerto, por ejemplo mediante inyección de reactivos en la cámara endotelial, destinados a modificar el comportamiento biológico de las células de la córnea (terapia génica, por ejemplo).

30 Ventajosamente, en el dispositivo según la invención, la pieza intermedia y la tapa endotelial comprenden medios complementarios de enclavamiento de una con otra, que permiten mantener los compartimentos en posición solidarizada. Estos medios complementarios de enclavamiento y de desenclavamiento se presentan, por ejemplo, a modo de correderas oblicuas que permiten encargarse de la progresiva compresión de las dos piezas (tapa endotelial y pieza intermedia), con el fin de bloquear la córnea de manera óptima mediante aplastamiento progresivo y controlado del collar escleral.

35 Tal dispositivo es apto para permanecer cerrado desde la extracción de la córnea del donante hasta el trasplante por el cirujano, por ejemplo. Únicamente es abierto en el quirófano para liberar la córnea para la cirugía.

Otras características y ventajas de la invención se desprenderán claramente de la descripción que de la misma se lleva a cabo a continuación, a título indicativo y sin carácter limitativo alguno, con referencia a las figuras que se acompañan.

40 Para una mejor comprensión de la invención, se hace referencia a varios esquemas, cuyas partes numeradas son invariables cualquiera que sea el esquema. Por simplificación, las partes o elementos de un modo de realización que, de manera idéntica o similar, reaparecen en otro modo de realización estarán identificados por las mismas referencias numéricas y no serán objeto de una nueva descripción.

La figura 1 es una vista en perspectiva, en despiece ordenado, de los elementos constitutivos del dispositivo: tapa endotelial, pieza intermedia de soporte de la muestra corneal, tapa epitelial con aplanación graduable.

45 Las figuras 2a y 2b son sendas vistas en perspectiva, en vista superior e inferior respectivamente, de la pieza intermedia de soporte de la muestra corneal.

Las figuras 3a y 3b son sendas vistas en perspectiva, en vista superior e inferior respectivamente, del ensamble de las 2 piezas que constituyen la tapa endotelial.

La figura 4 es una vista en perspectiva superior de la tapa epitelial.

50 Las figuras 5a y 5b son sendas vistas en perspectiva, en vista desde el frente y en vista posterior respectivamente, del sistema complementario de cierre entre la tapa endotelial y la pieza intermedia.

La figura 6 es una vista en perspectiva y en sección del dispositivo ensamblado con una muestra corneal instalada.

La figura 7 es una vista en perspectiva del dispositivo en posición de cerrado con una muestra corneal instalada.

La figura 8 es un esquema de principio del modo de regulación de la sobrepresión en la cámara endotelial, utilizando un modo de control electrónico.

5 La figura 9 es un esquema de principio del modo de regulación de la sobrepresión en la cámara endotelial, utilizando un modo de control pasivo sin aporte eléctrico mediante válvula de control pasiva (válvula de retención o check valve).

Con referencia a las figuras 1 y 7, el dispositivo se materializa en forma de un biorreactor (1) que comprende una pieza intermedia (2) de soporte de la muestra corneal (3), una pieza superior que se denomina tapa endotelial (4) y una pieza inferior que se denomina tapa epitelial (5).

10 Con referencia a las figuras 2a y 2b, la pieza intermedia (2) incluye un agujero central (6a) del diámetro de la córnea (3a), rodeado por una garganta circunferencial (6b) y por un reborde (6c) determinantes de un alojamiento destinado a recibir el collar de esclera (3b). Esta incluye asimismo al menos 3 orificios (7a, 7b, 7c) que permiten la entrada o la salida del medio de preservación o de cualquier otra sustancia por el lado epitelial de la córnea (3a). El orificio (7a) puede servir para la inyección del medio, el segundo (7b), para la salida del medio, y el tercero (7c) es un orificio llamado técnico, para la inyección o la remoción de medio o sustancia suplementaria sin tener que interrumpir el flujo por los dos primeros orificios. Sobre estos orificios pueden adaptarse tubos de circulación de medio de preservación o tapones (obturadores tradicionales u obturadores pero perforables mediante una aguja estéril para, por ejemplo, realizar extracciones o inyecciones de sustancias). Esta pieza intermedia incluye medios complementarios de enclavamiento (8) con la tapa endotelial (4). Estos medios pueden ser tres correderas (8) ubicadas a 120° por la circunferencia de la pieza intermedia (2) y destinadas a recibir un sistema de enclavamiento (14b). Una de las caras de la corredera está inclinada respecto a la horizontal y permite un apriete progresivo de la tapa endotelial (4) sobre la pieza intermedia (2). Este apriete aplasta el collar de esclera (3b) realizando una auténtica junta de estanqueidad entre estas dos piezas. El plano inclinado de la corredera (8) está micro-acanalado, con el fin de incrementar el rozamiento con el correspondiente plano inclinado del sistema de enclavamiento (14b). Este rozamiento incrementado impide un desbloqueo fortuito de las 2 piezas en las manipulaciones del biorreactor (1). La estanqueidad con la tapa endotelial (4) queda asegurada por medio de una junta anular (15a) alojada en una garganta circular (15b). A título de ejemplo, esta junta puede ser una junta tórica (15b). La estanqueidad con la tapa epitelial (5) queda asegurada por medio de una junta anular (16a) alojada en una garganta circular (16b). A título de ejemplo, esta junta puede ser una junta cuadrilobulada (16a) elegida por sus buenas prestaciones a traslación. La pieza intermedia también incluye un sistema que permite la graduación de la aplanación de la córnea mediante la tapa epitelial (5), por ejemplo por medio de un paso de rosca (9), permitiendo así una aplanación graduable.

Con referencia a las figuras 3a y 3b, la tapa endotelial (4) está realizada en dos partes. Una primera parte (4a) que hace las funciones de recipiente cilíndrico y una segunda parte (4b) que hace las funciones de tapa transparente. Estas 2 piezas están ensambladas de manera estanca, por ejemplo por pegado, y delimitan la cámara endotelial (18 en la fig. 6). La primera parte (4a) comprende, en su fondo, un agujero (10a) que permite el acceso del líquido al endotelio de la córnea (3a). Los bordes (10b) de este agujero (10a) emergen hacia la pieza intermedia (3), para ser coincidentes con la garganta circunferencial (6b) en orden a aprisionar la muestra corneal, aplastando la esclera (3b) entre la pieza intermedia (2) y la tapa endotelial (4), merced al sistema de enclavamiento complementario (8, 14a, 14b). Los agujeros de la pieza intermedia y de la tapa endotelial son coaxiales. La pared lateral de la tapa endotelial (4a) presenta orificios de entrada (11a) o de salida (11b) de líquido de preservación, destinados a estar sujetos a unos medios de sometimiento a presión del biorreactor (1), y un orificio "técnico" (11c) para la realización de extracciones o de inyección de un medio de preservación o de cualquier otra sustancia, sin tener que interrumpir el flujo por los dos primeros. Sobre estos orificios pueden adaptarse tubos de circulación de medio de preservación o tapones (tradicionales o perforables). El orificio de inyección (11a) del medio de preservación en la cámara endotelial aboca en una canal (12) que dirige el medio de preservación fresco directamente sobre la cara endotelial de la córnea (3a). La pared lateral de la pieza (4a) también comprende un orificio (13) destinado a recibir un microsensado electrónico de presión. La tapa endotelial incluye medios complementarios de enclavamiento (14a) con la pieza intermedia (2). Estos medios pueden ser 3 carriles (14a) ubicados a 120° a lo largo de la circunferencia de la tapa endotelial (4), destinados a recibir el sistema de enclavamiento (14b). Este sistema desliza sobre el carril. Queda descrito con detalle en la figura 5a y la figura 5b. La tapa endotelial (4) es apta para pasar a engarzarse en la pieza intermedia (2) a estanqueidad para delimitar un espacio denominado cámara endotelial (18), aprisionando la muestra corneal (3). La estanqueidad queda asegurada por medio de una junta anular tórica (15a) alojada en una garganta (15b) realizada en la pieza intermedia (2). La tapa endotelial incluye un amplio cajeadado (4c y 4d) en el borde, destinado a permitir el paso de un objetivo óptico recto, de un microscopio especcular, de un tomógrafo por coherencia óptica (OCT), de un láser o de cualquier otro instrumento destinado al análisis o al tratamiento de la córnea y que precise aproximarse lo más cerca posible de la córnea.

Con referencia a la figura 4, la tapa epitelial (5) es transparente. Es apta para pasar a engarzarse en la pieza intermedia (2) a estanqueidad para delimitar un espacio denominado cámara epitelial (19 en la fig. 6). Incluye un sistema que permite una aplanación graduable de la córnea (3) al hundirse en la pieza intermedia. Este sistema es, por ejemplo, un paso de rosca (17) que corre por el complementario paso de rosca (9) de la pieza intermedia,

permitiendo así una aplanación precisa y elegida a voluntad. La superficie que establece contacto con la cara epitelial de la córnea (3a) puede ser plana, según lo representado en este punto, o curva.

Con referencia a las figuras 5a y 5b, el sistema complementario de cierre entre la tapa endotelial (4) y la pieza intermedia (2) consta, por una parte, de tres carriles (14a) solidarios de la cara externa de la pieza (4a) de la tapa endotelial a lo largo de su circunferencia y dispuestos a 120° y, por otra, de 3 sistemas de enclavamiento (14b) que deslizan sobre los carriles (14a). La parte superior del sistema de enclavamiento (14b) incluye una canal en T (14d) apta para pasar a deslizar sobre el carril (14a) de forma complementaria. La parte inferior del sistema de cierre (14b) incluye una canal (14e), uno de cuyos bordes está realizado oblicuo (14f). Esta parte oblicua (14f) es apta para entrar en contacto con un carril (8) también realizado oblicuo y solidario de la pieza intermedia (2), de modo que la traslación del sistema de cierre (14b) sobre el carril (14a) hace que estas 2 superficies oblicuas queden enfrentadas y provoca el apriete progresivo de la tapa endotelial (4) sobre la pieza intermedia (2). Este apriete aplasta el collar de esclera (3b) entre las superficies (6b) y (10b) que flanquean los agujeros (6a) y (10a) de la pieza intermedia (2) y de la tapa endotelial (4), respectivamente. El apriete realizado sobre la esclera (3b) inmoviliza perfectamente la muestra corneal (3), al propio tiempo que respeta la integridad de la córnea (3a). Las dos partes oblicuas del carril (8) y del sistema de enclavamiento (14b) están micro-acanaladas, con el fin de facilitar su bloqueo una sobre otra e impedir un desbloqueo fortuito. La parte externa (14c) del sistema de enclavamiento está asimismo micro-acanalada para facilitar el agarre entre los dedos.

Con referencia a la figura 6, el biorreactor (1) es transparente de parte a parte de cara a la córnea (3), merced a las paredes transparentes de las tapas endotelial (4) y epitelial (5), situadas frente a los dos agujeros coaxiales (6a y 10a) de las piezas intermedias (2) y de la tapa endotelial (4), respectivamente. Esta transparencia permite el paso sin obstáculos de la luz visible (controles visuales o instrumentales de la córnea por un observador), de los rayos ultravioleta (por ejemplo, para el entrecruzamiento del colágeno de la córnea), de haces láser destinados al análisis (por ejemplo, formación de imágenes por tomografía de coherencia óptica), la terapia celular (activación de procesos biológicos en el interior de la córnea), o la terapia tisular (corte de la córnea), o de cualquier otra longitud de onda de la luz. El conjunto de estas operaciones se puede efectuar en todo momento y sin tener que abrir el biorreactor. La tapa endotelial (4), una vez cerrada sobre la pieza intermedia (2), delimita la cámara endotelial (18). El espacio entre la pieza intermedia (2) y la tapa epitelial (5) delimita la cámara epitelial (19).

En la práctica, la utilización del biorreactor (1) en vistas a un trasplante de córnea se descompone en tres etapas: etapa de extracción 1 del donante, etapa de preservación 2 por el banco de córneas y luego etapa de trasplante 3 en el quirófano.

En la etapa de extracción 1, la pieza intermedia (2) y la tapa endotelial (4) se desolidarizan mientras que la pieza intermedia (2) y la tapa epitelial (5) son solidarias. La muestra corneal (3) se deposita dentro del alojamiento determinado por los rebordes (6b) y (6c) del agujero (6a) de la pieza intermedia (2). La tapa endotelial (4) se encaja a continuación en la pieza intermedia (2), aprisionando así la muestra corneal (3) entre dos piezas (2, 4) mediante aplastamiento de su collar escleral (3b). Así, la córnea (3a) se halla con su cara endotelial comunicando con la cámara endotelial (18) y con su cara epitelial comunicando con la cámara epitelial (19). A continuación se cierran los medios de enclavamiento complementarios haciendo deslizar con los dedos los 3 sistemas de enclavamiento (14b) sobre los carriles (14a). Los tubos de circulación de medio de preservación están entonces enchufados a los orificios (7a, 7b y 11a, 11b) de la pieza intermedia (2) y de la tapa endotelial (4). En otro modo de realización, los tubos pueden estar, de entrada, ensartados en la tapa endotelial (4) y la pieza intermedia (2). Los orificios técnicos (7c) y (11c) permanecen obturados mediante tapones obturantes simples u obturantes perforables. Los tubos están enlazados a los medios de puesta en circulación del medio de preservación y de creación del gradiente de presión con sobrepresión dentro de la cámara endotelial (descritos en la fig. 8 y la fig. 9).

En la etapa de preservación 2 en un banco de córneas, el biorreactor permite el mantenimiento de la viabilidad de las células de la córnea, evita el edema de la córnea, motivo de pérdida de la transparencia del tejido, y limita los pliegues posteriores, responsables a su vez de una sobremortalidad de las células endoteliales de la córnea. El biorreactor puede ser utilizado a cualquier temperatura entre 1 y 40 °C, según el tipo de medio de preservación. Al tener el biorreactor la ventaja de ser transparente de parte a parte y estar realizado en un material compatible con la utilización de sonda de ultrasonidos, los controles de calidad de la córnea se pueden realizar sin abrir el biorreactor. Además, este es funcional en cualquier posición (horizontal o vertical) y posee un amplio cajeadado en la tapa endotelial (4) para facilitar el paso de los instrumentos de medida o de tratamiento del injerto. A título de ejemplos no limitativos, estos controles de calidad pueden ser: evaluación de la transparencia (mediante examen con lámpara de hendidura de oftalmólogos o cualquier otro dispositivo de cuantificación de la transparencia), medidas de espesor (del injerto entero o del injerto cortado), recuento de las células endoteliales, bien mediante microscopio especular sin preparación, o bien mediante microscopio óptico convencional previa preparación del injerto (los reactivos necesarios para la preparación del injerto se pueden inyectar por el orificio técnico (11c) de la tapa endotelial (4). Por otro lado, el biorreactor, al tener la ventaja de ser transparente de parte a parte, permite ventajosamente realizar, en cualquier momento de esta etapa de preservación 2 por el banco, un corte del injerto por láser.

Este se puede realizar indistintamente por la cara endotelial o por la cara epitelial. Puede estar facilitado por la aplanación de la córnea mediante la tapa epitelial (5).

Ventajosamente, el biorreactor se puede utilizar en cualquier sentido, pero en la posición usual, la muestra corneal está orientada epitelio hacia abajo. En esta posición, es imposible que las ocasionales burbujas de aire presentes en el circuito queden atascadas bajo la bóveda corneal, del lado endotelial. En caso contrario, estas burbujas efectivamente perturbarían la observación de la córnea y el análisis del endotelio corneal.

- 5 Ventajosamente, el biorreactor puede ser utilizado asimismo verticalmente para, por ejemplo, un control de la córnea con la usual lámpara de hendidura de los oftalmólogos.

En la etapa de preservación 2, la observación del endotelio corneal puede verse facilitada ventajosamente, en cualquier momento, mediante la aplanación de la bóveda de la córnea por la tapa epitelial (5), suprimiendo la curvatura de la córnea motivo de dificultad de enfoque y de error de paralaje.

- 10 En la etapa de preservación 2, los orificios técnicos (7c) y (11c) pueden permitir la inyección de reactivos necesarios para la realización de una modificación de las células de la muestra corneal, con el fin de realizar una terapia celular del injerto, por ejemplo por transfección celular mediante vectores virales, químicos o físico-químicos.

En la etapa 2, estos orificios técnicos pueden permitir, en cualquier momento, extraer muestras de medios de preservación para realizar controles de esterilidad microbiológica.

- 15 En la etapa de trasplante 3 en quirófano, si no se ha efectuado en el banco de córneas, la muestra corneal puede ser cortada por láser directamente a través del biorreactor (1), con o sin aplanación de la bóveda de la córnea mediante la tapa epitelial (5).

- 20 En la etapa de trasplante 3 en quirófano, el biorreactor (1) se abre en el último momento antes de realizar el trasplante. Es este el único momento en el que se abre el biorreactor. Para ello, los medios de enclavamiento complementarios (14b) son desenclavados por la enfermera de quirófano para permitir la separación de la tapa endotelial (4) y de la pieza intermedia (2). Así, la muestra corneal (3) permanece anidada en el pocillo central de la pieza intermedia (2) y el cirujano la agarra por medio de una pinza quirúrgica estéril.

- 25 Con referencia a la figura 7, el biorreactor (1), en posición ensamblada, es un conjunto estanco que da cabida a una muestra corneal (3) aprisionada firmemente entre la pieza intermedia (2) y la tapa endotelial (4). Los orificios de las piezas intermedias y de la tapa endotelial están unidos a los medios de circulación del medio de preservación y de creación del gradiente de presión con sobrepresión por el lado endotelial.

El biorreactor (1) puede ser utilizado y conservar sus propiedades en cualquier posición. Así, se puede disponer ante cualquier instrumento óptico: por ejemplo, en posición vertical, se puede ubicar frente a una lámpara de hendidura de oftalmólogo.

- 30 Con referencia a la figura 8, el biorreactor (1) está conectado mediante tubos a los diferentes elementos que se encargan de la circulación del medio de preservación por las dos cámaras (endoteliales (18) y epiteliales (19)) y el mantenimiento del gradiente de presión con sobrepresión en la cámara endotelial. En la figura 8, la presión se regula de manera activa mediante un dispositivo electrónico. La presión P_o dentro de la cámara endotelial (18) es superior a la de la cámara epitelial (19). Esta presión P_o es graduable, pero típicamente puede ser la presión intraocular fisiológica de 12 a 20 mmHg. A título de ejemplo, esta presión se puede regular de la siguiente manera: en un modo de realización, el medio de preservación está contenido en un depósito a presión (20) (por ejemplo, un infusor de membrana elastomérica, de resorte o gas comprimido), en otro modo de realización, el medio de preservación es inyectado por una bomba. Este depósito permite la inyección de líquido en la cámara endotelial (18) del biorreactor. La inyección está controlada (en duración y en frecuencia) por una microelectroválvula (21) según la presión P_o reinante en la cámara endotelial. Esta regulación queda asegurada por un lazo de control que comprende un transductor de presión (24) que mide permanentemente o según una frecuencia establecida previamente P_o . De acuerdo con una consigna (23) determinada por el operador (por ejemplo, 12 a 20 mmHg) el corrector (22) da la orden de apertura o de cierre de la electroválvula. En la salida de la cámara endotelial, el líquido de preservación franquea una segunda válvula pasiva (25) que reduce el caudal y evita el violento desplome de P_o cuando se cierra la válvula y no es inyectado ningún líquido. Esta segunda válvula puede ser, por ejemplo, un capilar fino de vidrio limitador de caudal o una válvula pasiva que tan solo se abre pasando de una cierta presión (llamada check-valve o válvula de retención). El medio de preservación se envía a continuación a la cámara epitelial (19) y luego a un depósito que sirve de "contenedor de residuos" (26) y abierto a la presión atmosférica a través de un filtro (27) que impide las contaminaciones microbiológicas retrógradas.

- 50 Con referencia a la figura 9, el gradiente de presión puede ser regulado asimismo de manera pasiva. El medio de preservación está contenido en un depósito a presión (20), por ejemplo un infusor de membrana elastomérica, de resorte o gas comprimido, o mediante una bomba. Este depósito permite la inyección de líquido en la cámara endotelial (18) del biorreactor (1). En la salida del depósito (20), un limitador de caudal (27), por ejemplo un capilar fino de vidrio, permite una inyección lenta y regular en la cámara endotelial (18). En la salida de la cámara endotelial (18) están ubicadas una o varias válvulas de control (llamadas Check valve o válvula de retención) (28), elegida(s) para abrirse cuando P_o alcanza la presión deseada (por ejemplo, 12 a 20 mmHg). De este modo, P_o nunca sobrepasa la presión elegida y se mantiene en ella mientras se inyecte el medio en la cámara endotelial (18). El

medio de preservación se envía a continuación a la cámara epitelial y luego a un depósito que sirve de contenedor de residuos (26) y abierto a la presión atmosférica a través de un filtro (27) que impide las contaminaciones microbiológicas retrógradas.

5 Es obvio que la invención no queda limitada al modo de realización antes descrito a título de ejemplo, sino que engloba cualesquiera modos de realización abarcados por las adjuntas reivindicaciones.

El interés biológico y el interés de la aplanación se pueden exponer como sigue:

10 El dispositivo reivindicado comprende unos medios (2, 4, 5). El dispositivo reivindicado permite preservar con vida durante varias semanas, en condiciones de esterilidad, una córnea humana en vistas a un trasplante de córnea en un paciente y preservar con vida durante varias semanas, en condiciones de esterilidad, una córnea humana o animal en vistas a experimentaciones *ex vivo* de laboratorio, de investigación fundamental o preclínicas.

El gradiente de presión graduable entre la cara endotelial y la cara epitelial, con sobrepresión por el lado endotelial, limita la aparición del edema del estroma corneal, lo hace revertir cuando hay presencia del mismo antes de la colocación de la muestra corneal dentro del biorreactor, limitando la aparición de los pliegues posteriores de la córnea y mejorando la viabilidad de las células de la córnea, en particular las células endoteliales.

15 El biorreactor corneal puede ser utilizado en cualquier posición, horizontalmente o verticalmente en especial.

Cuando es utilizado en posición horizontal con el epitelio corneal dirigido hacia abajo, las ocasionales burbujas de aire presentes en el circuito no pueden acumularse bajo la bóveda corneal y no perturban la observación de la córnea.

20 La tapa transparente del compartimento epitelial se puede desplazar de manera precisa y graduable para entrar en contacto con el epitelio corneal y achatar (aplanar) la bóveda corneal mediante una superficie plana (o curva), con el fin de facilitar los cortes de córnea por procedimientos láser.

Esta tapa, que está realizada en un material transparente y compatible con el paso de los ultrasonidos, permite la realización de ecografía ultrasónica, con el fin de poder medir, sin abrir el reactor, el espesor de la córnea antes y/o después del corte con láser o mediante otro procedimiento.

25 La tapa epitelial se puede quitar al tiempo que se mantiene la sobrepresión dentro del compartimento endotelial (18). Esto puede permitir la realización de cortes de córnea mediante disección manual o mediante micro-queratotomo. Esto también puede revelarse útil en las experimentaciones *ex vivo* en las que se necesita una instilación de sustancias sobre la cara epitelial de la córnea expuesta al aire circundante.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de preservación (1) de una muestra corneal (3) que comprende medios de recepción y de aprisionamiento de la muestra corneal (3), sujetos a unos medios de creación de un gradiente de presión con sobrepresión por el lado endotelial y a unos medios de circulación de un líquido de preservación por unas disposiciones que presentan los medios de recepción y de aprisionamiento de la muestra corneal (3), en cuyo dispositivo:
- el medio de recepción incluye una primera parte, que se denomina pieza intermedia (2), que comprende un agujero (6a) del diámetro de la córnea (3a) rodeado por una garganta circular (6b) y por un reborde (6c) determinantes de un alojamiento destinado a recibir la muestra corneal (3), dicho alojamiento se encarga del correcto centraje de la muestra corneal (3) en su instalación en el dispositivo y permite que dicha muestra corneal permanezca estable en la apertura del dispositivo en quirófano;
 - el medio de aprisionamiento incluye una segunda parte, que se denomina tapa endotelial (4), que comprende un agujero (10a) del diámetro de la córnea (3a) rodeado por un reborde (10b) destinado a pasar a aprisionar la muestra corneal (3) aplastando el collar de esclera (3b) sobre la garganta circular (6b) de la pieza intermedia;
 - el dispositivo incluye una tercera parte, que se denomina tapa epitelial (5);
 - los medios de recepción y de aprisionamiento de la muestra corneal (3) están adaptados para aprisionar a estanqueidad el collar de esclera (3b) que rodea la córnea (3a) para delimitar una cámara endotelial (18) y una cámara epitelial (19) separadas, por las que puede circular medio de preservación con una sobrepresión dentro de la cámara endotelial (18);
 - la cámara endotelial (18) está constituida por un espacio determinado entre la tapa endotelial (4) y la pieza intermedia (2), previo acoplamiento estanco de dicha tapa endotelial con dicha pieza;
 - la cámara epitelial (19) está constituida por un espacio determinado entre la parte intermedia y la tapa epitelial (5), previo acoplamiento de dicha tapa epitelial (5) con dicha pieza (2);
 - la pieza intermedia (2) y la tapa endotelial (4) comprenden orificios de entrada (7a, 11a) y de salida (7b, 11b) de medio de preservación, con los que están unidos los medios de puesta en circulación del medio de preservación y de creación del gradiente de presión entre cámara endotelial y cámara epitelial con sobrepresión dentro de la cámara endotelial.
2. Dispositivo (1) según la reivindicación 1, caracterizado por que la tapa endotelial (4) comprende un cajeadado que permite el paso de un objetivo de microscopio o de cualquier otro instrumento que precise estar lo más cerca posible de la córnea y destinado al análisis o al tratamiento de la córnea a través del dispositivo.
3. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado por que está sujeto a unos medios de creación de un gradiente de presión graduable entre la cara endotelial y la cara epitelial, con sobrepresión por el lado endotelial, por ejemplo igual a la presión intraocular fisiológica, y a unos medios de circulación de un líquido de preservación que presentan los medios de recepción y de aprisionamiento (2, 4) de la muestra corneal (3).
4. Dispositivo (1) según la reivindicación 3, caracterizado por que el dispositivo está adaptado para generar y regular el gradiente de presión graduable entre la cara endotelial y la cara epitelial, con sobrepresión por el lado endotelial, bien de manera pasiva mediante la utilización de válvulas de control pasivo que se abren a la presión deseada, o bien de manera activa mediante el servocontrol de una microelectroválvula que controla la inyección del medio de preservación en la cámara endotelial según una consigna fijada por el usuario y en función de la presión en la cámara endotelial medida por un microsensors de presión.
5. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la tapa endotelial (4) comprende una canal (12) en continuidad con el orificio de entrada (11a) que permite la llegada de medio de preservación fresco directamente sobre el endotelio de la córnea (3a).
6. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que las cámaras endoteliales (18) y epiteliales (19) incluyen orificios técnicos (11c, 7c), aptos para permitir la toma de muestras de medio de preservación a efectos de análisis microbiológico o bioquímico, o la inyección de cualquier sustancia, especialmente para favorecer los recuentos celulares, sin comprometer la esterilidad del interior del biorreactor.
7. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que la tapa endotelial (4) y la tapa epitelial (5) son transparentes de parte a parte de la muestra corneal (3), permitiendo el análisis de todas las capas de la córnea (3a) sin tener que abrir el biorreactor corneal (1).
8. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que el dispositivo está adaptado para graduar la temperatura del líquido de preservación a una temperatura de 1 a 40 grados Celsius, por

ejemplo a la temperatura fisiológica de la córnea.

- 5 9. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que la tapa endotelial (4) está realizada en dos partes, comprendiendo una primera parte (4a) el agujero (10a) y su reborde (10b) que sirve para el aprisionamiento de la muestra corneal (3) mediante aplastamiento de la esclera (3b), los orificios de entrada (11a), de salida (11b) de líquido y el orificio técnico (11c), y permitiendo una segunda parte (4b) transparente la observación de parte a parte de la córnea (3a), y siendo aptas las dos partes (4a, 4b) para pasar a encajarse entre sí a estanqueidad, por ejemplo por pegado.
- 10 10. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que la tapa endotelial (4) y la pieza intermedia (2) comprenden medios complementarios de enclavamiento de una con otra (14a, 14b, 8), que permiten mantenerlas en posición solidarizada y estanca.
- 15 11. Dispositivo (1) según la reivindicación 10, caracterizado por que los medios complementarios de enclavamiento se materializan en forma de carriles (14a) sobre la tapa endotelial (2), aptos para recibir un sistema de enclavamiento (14b) que incluye una canal de borde inclinado cooperante con una canal (8) realizada en la circunferencia de la pieza intermedia (2) y de forma complementaria, de modo que, en el resbalamiento del sistema de enclavamiento (14b) sobre el carril (14a), las dos superficies inclinadas (14f, 8) se enfrentan, permitiendo un apriete progresivo de la tapa endotelial (4) sobre la pieza intermedia (2) con el fin de encargarse de la óptima compresión del collar escleral (3b) sin dañar la córnea (3a).
- 20 12. Dispositivo (1) según la reivindicación 11, caracterizado por que dichos medios complementarios de enclavamiento (8, 14b) incluyen, sobre sus dos bordes inclinados, superficies micro-acanaladas que impiden un desbloqueo fortuito, incrementando el par de rozamiento entre ellas.
13. Dispositivo (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado por que la tapa epitelial (5) y la pieza intermedia (4) se ensamblan a estanqueidad, especialmente por medio de una junta cuadrilobulada (16a), que permite el desplazamiento de la tapa epitelial (5) con respecto a la pieza intermedia (4).

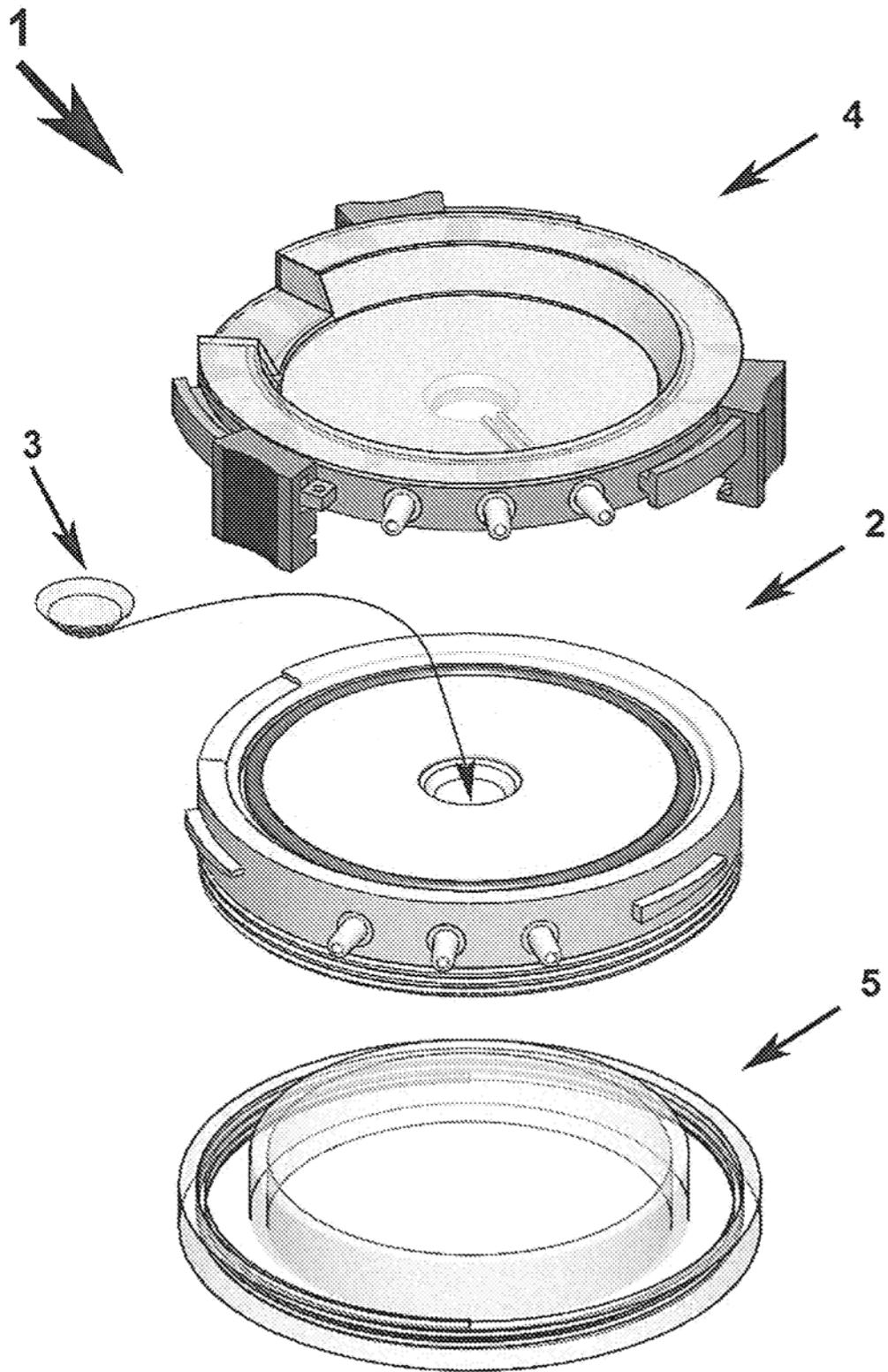


FIG.1

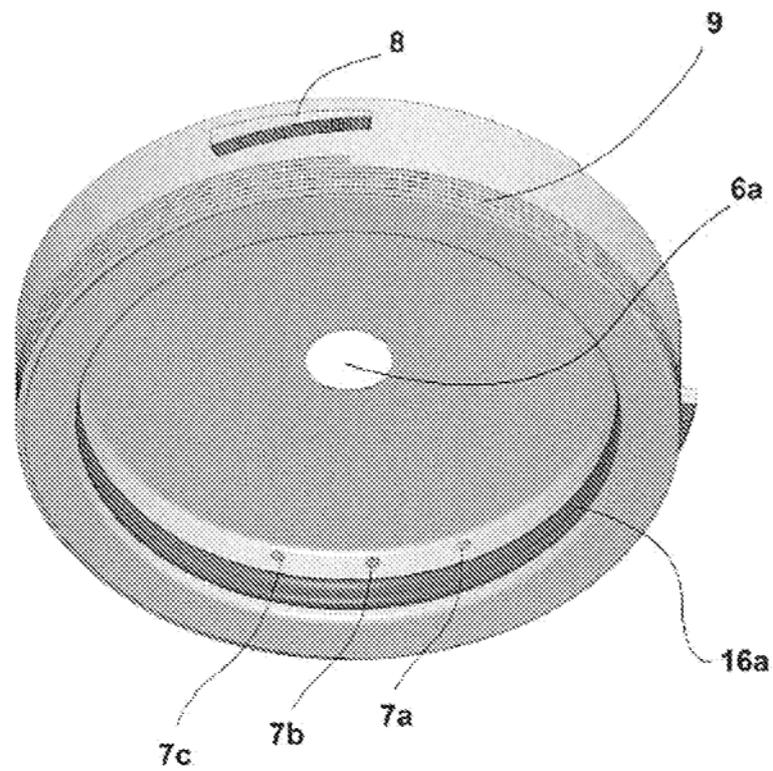
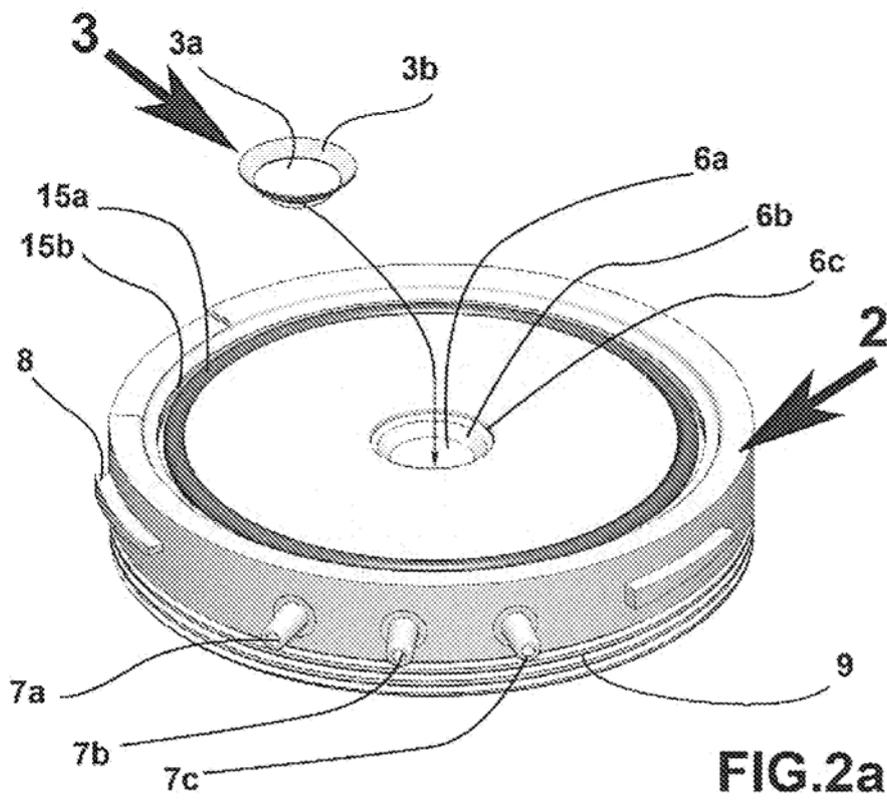


FIG. 2b

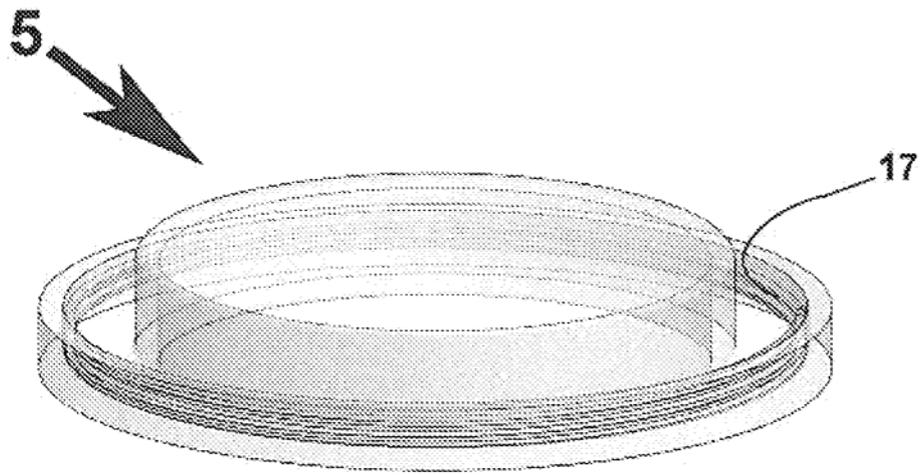


FIG. 4

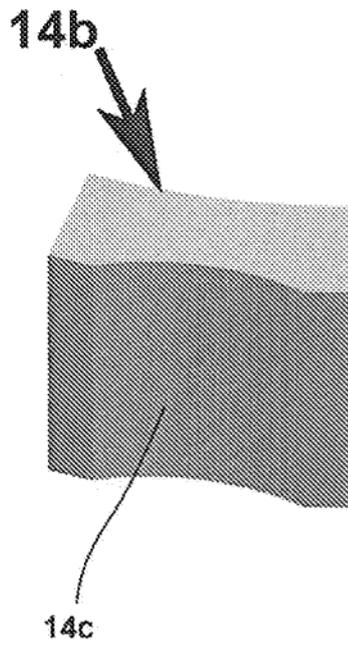


FIG. 5a

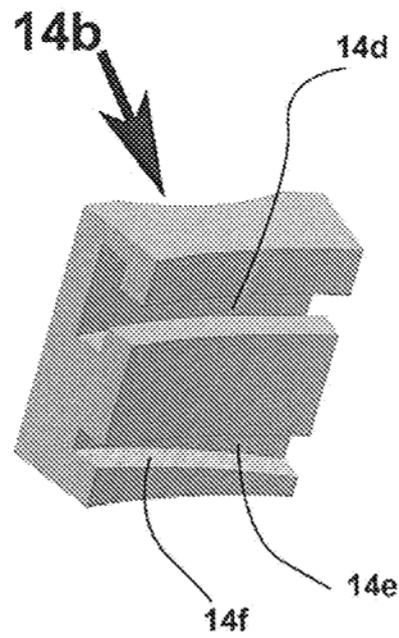


FIG. 5b

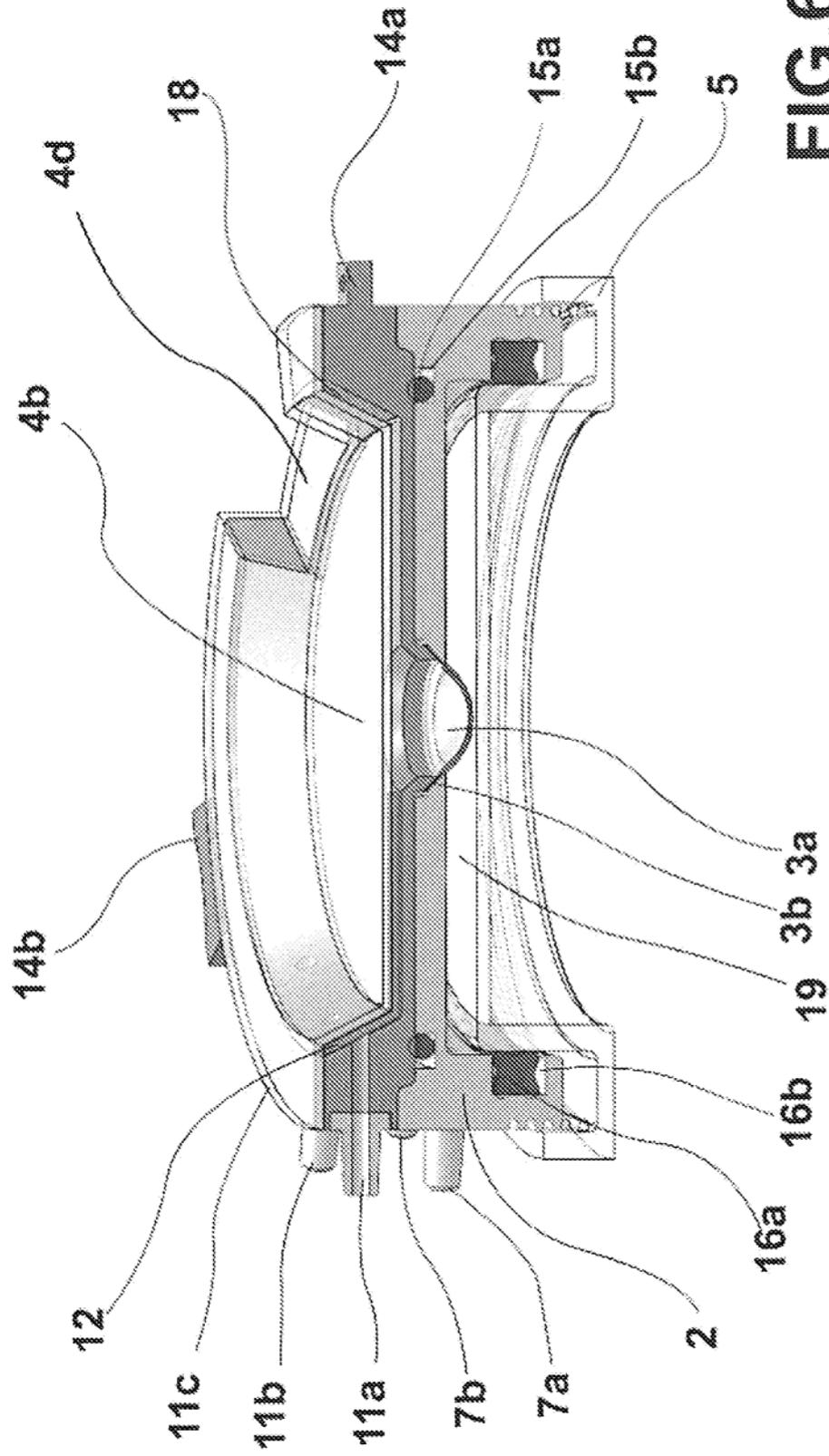
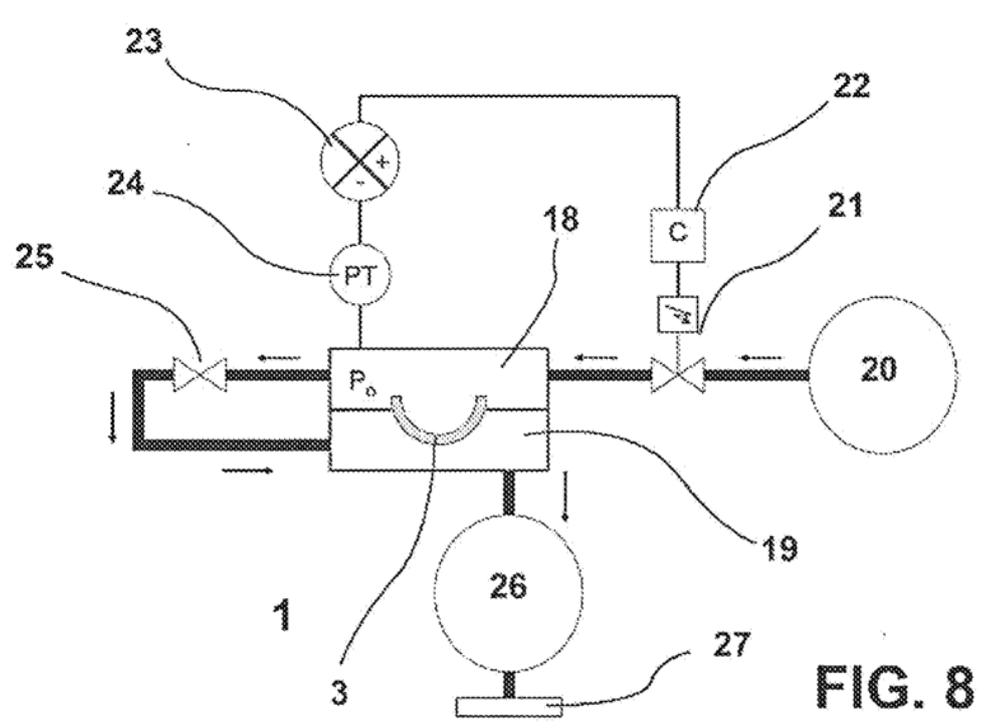
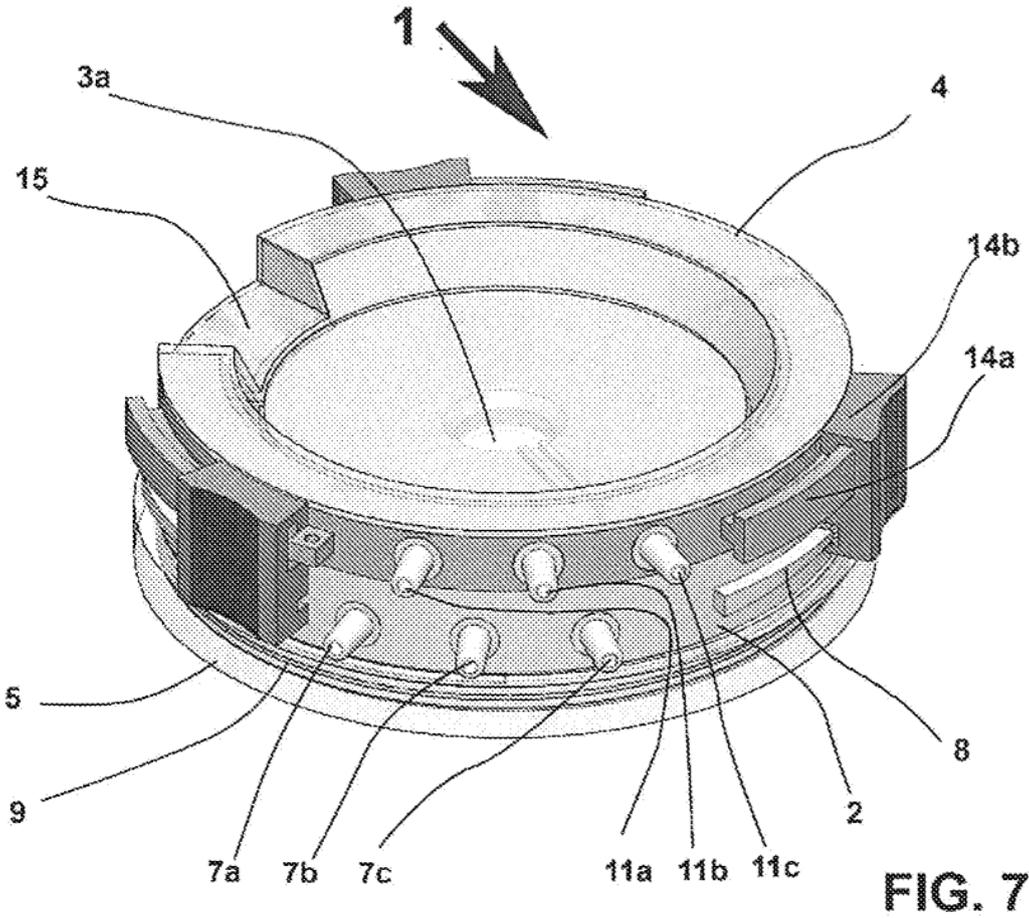


FIG.6



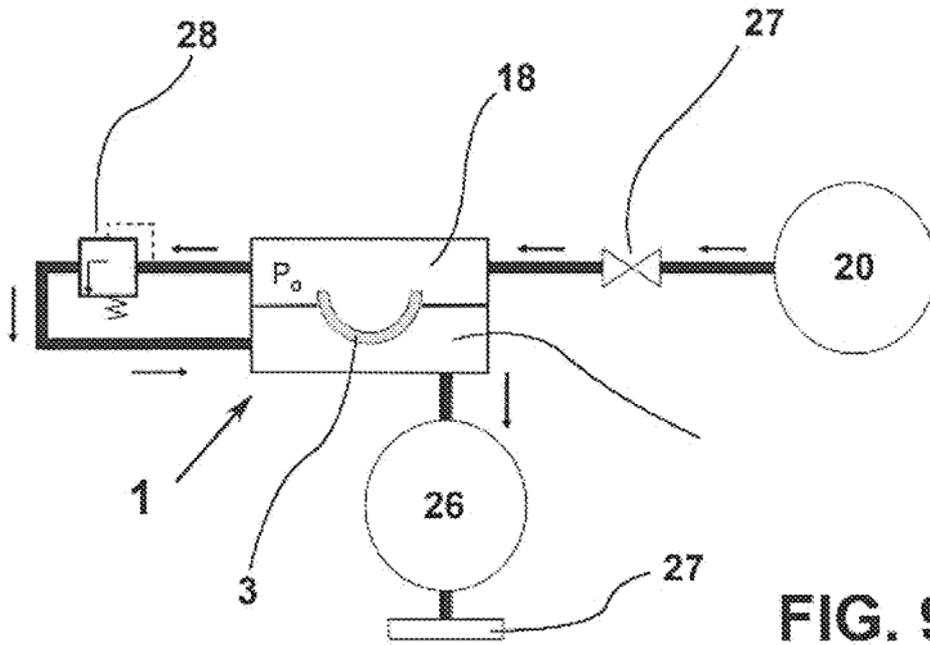


FIG. 9