



## *Espressione della mortalità endoteliale*



*Domenico Amato*  
Banca degli Occhi di Roma



IV Corso di Formazione SIBO Torino, 10 Ottobre 2009

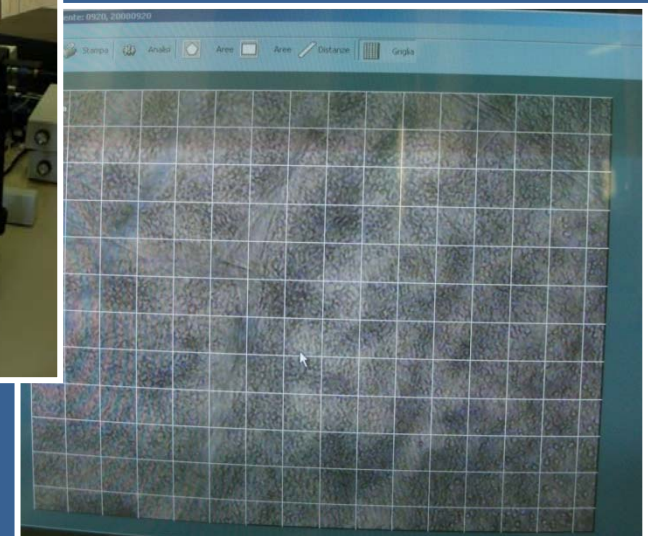
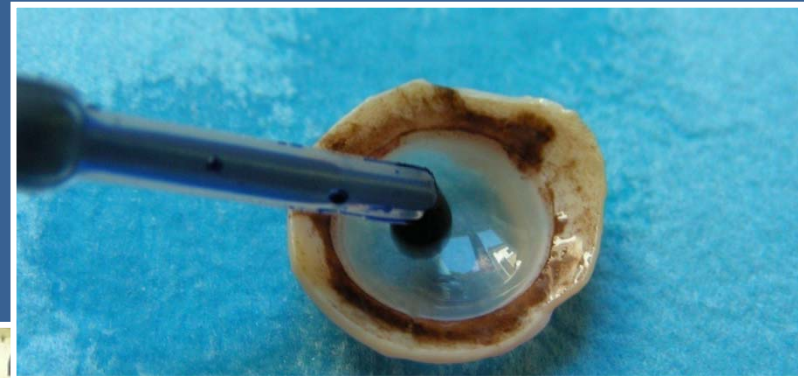
**VALUTAZIONE DELL'IDONEITA' DEL TESSUTO**  
(LG CNT D7)

Depositare la cornea, con l'endotelio rivolto verso il basso, sulla piastra di Petri.

Mettere la Petri sul porta-preparati del microscopio; limitare la durata dell'osservazione ad un massimo di 5 minuti e valutare la cornea seguendo i seguenti punti:

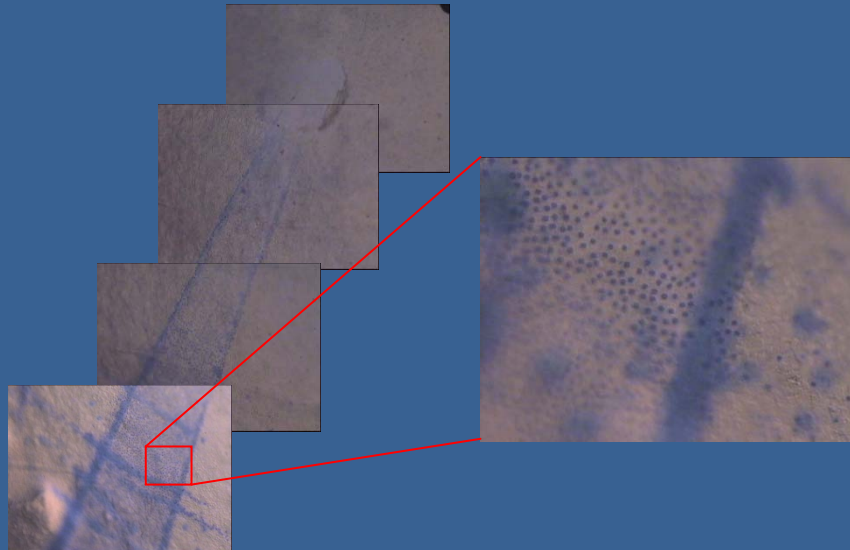
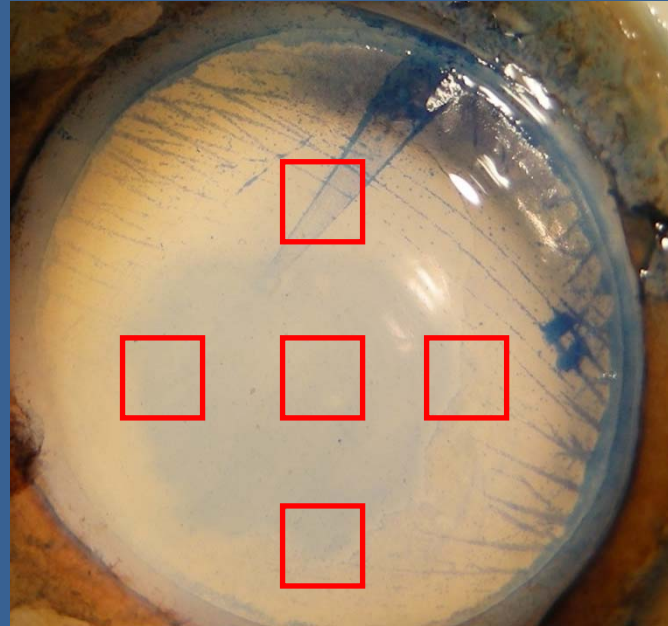
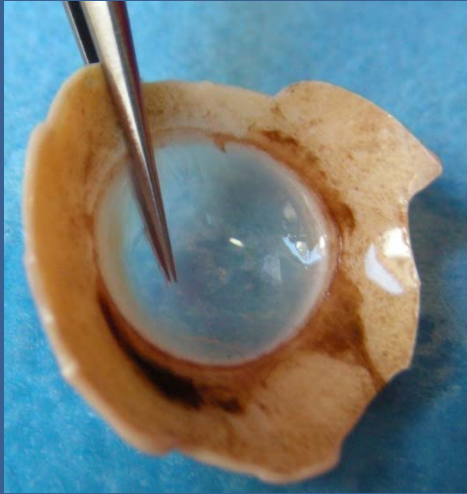
- a. **Ingrandimento 40 x.** Si esplora tutto il perimetro corneale al limbus e tutta la superficie endoteliale. Rilevare alterazioni periferiche o grossolane dell'epitelio, stroma o endotelio, come indicato di seguito:

	Criterio di valutazione
Epitelio	Un epitelio poco trasparente per disidratazione o edema, o scarsamente aderente, può indicare un danno da fenomeni <i>post mortem</i> .
Stroma	Verificare la presenza di cicatrici, esiti di precedenti interventi chirurgici, esiti di corpi estranei.
Pieghe dello stroma e della membrana di Descemet	La presenza di pieghe con decorso irregolare indica una pregressa ipotonia bulbare, che può essere correlata ad un prolungato intervallo post mortem.  Un decorso regolare delle pieghe, lungo le linee di una pregressa trazione, è indice di danno traumatico prodotto in fase di prelievo o isolamento in laboratorio. La qualità della cornea dipende dall'entità del danno endoteliale prodotto dalle pieghe.  Nel corso della conservazione in coltura la cornea si gonfia, producendo pieghe della membrana di Descemet; le pieghe ricoperte da endotelio si risolvono dopo il trapianto. Sono accettabili anche piccole aree non ricoperte da endotelio in corrispondenza delle pieghe.
	Criterio di valutazione
Densità endoteliale (cellule/mm <sup>2</sup> )	Si valuta nella porzione centrale della cornea. Considerare almeno 5 quadratini da 1 mm <sup>2</sup> del reticolo 10 x 10 mm inserito in un oculare. La superficie reale all'interno di ciascun quadratino è di 1/100 di mm <sup>2</sup> . Si contano tutte le cellule all'interno di un quadratino, più le cellule che toccano o sovrastano due lati contigui. La media delle cinque rilevazioni, moltiplicata per 100, fornisce la densità endoteliale. Una differenza superiore a 300 cellule/mm <sup>2</sup> fra la densità più alta e quella più bassa riscontrate indica un severo polimorfismo (il coefficiente di variazione di queste misure è solitamente compreso fra il 5 e il 10%).
TBPEC	La presenza di TBPEC va espressa in percentuale rispetto alla densità. Se le TBPEC sono numerose, è conveniente contarle all'interno di un quadratino da 1 mm <sup>2</sup> (1/100 di mm <sup>2</sup> reale). Esempio: se si contano mediamente due TBPEC, corrispondenti a 200 cellule/mm <sup>2</sup> e la densità è superiore a 2000 cellule/mm <sup>2</sup> , la mortalità è del 10%. Se le TBPEC sono poche, è conveniente contarle all'interno del reticolo 10x10 mm (se si contano mediamente due TBPEC la mortalità è 0,1%).  TBPEC presenti in maniera diffusa indicano una sofferenza metabolica dell'endotelio corneale.  TBPEC possono essere presenti anche lungo pieghe da ipotono.  TBPEC possono essere presenti lungo pieghe da trazione, o in corrispondenza di lesioni endoteliali iatrogene.  Durante la conservazione in coltura le cellule morte vengono rimosse dal monostato e sostituite dalle cellule adiacenti. Dopo la conservazione è ammessa la presenza di rare cellule morte sulle pieghe, e una perdita di cellule endoteliali non superiore al 20%.
Margini	Se in presenza della soluzione a base di saccarosio i margini intercellulari non si evidenziano, o si evidenziano in modo anormale, può essere presente una alterazione



**% T.B.P.C.**

# Quali aree ?

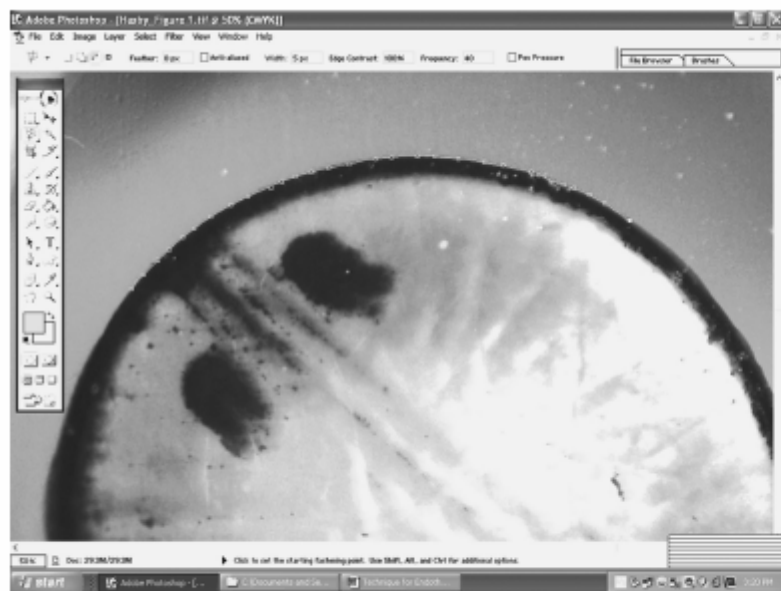




## BASIC INVESTIGATION

# An Easy and Inexpensive Method for Quantitative Analysis of Endothelial Damage by Using Vital Dye Staining and Adobe Photoshop Software

*Hisham A. Saad, MD,\*† Mark A. Terry, MD,\*‡§ Neda Shamie, MD,\* Edwin S. Chen, MD,\* Daniel F. Friend, MS,‡ Jeffrey D. Holiman, CEBT,§ and Christopher Stoeger, CEBT, CTBS§*

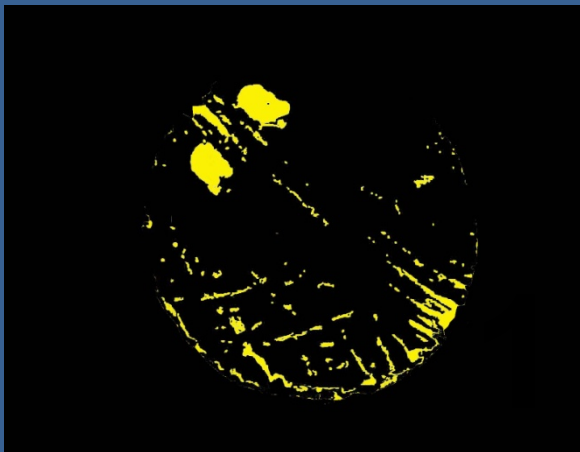


**FIGURE 1.** The image is magnified to allow shorter selection intervals and more precise selection of the border of the graft.

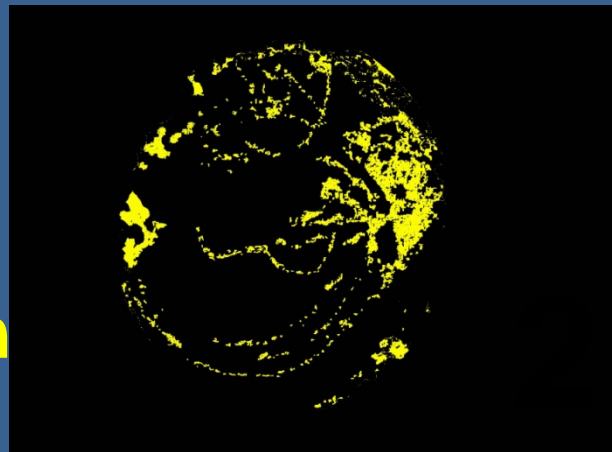


**FIGURE 3.** The background of the corneal graft was erased by using the Eraser Tool.

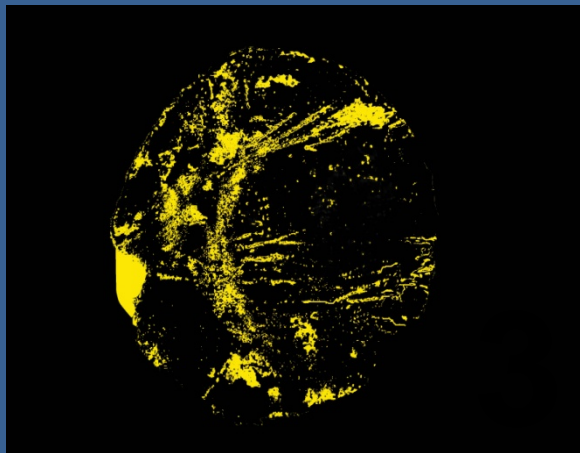
**5mm  
Forceps**



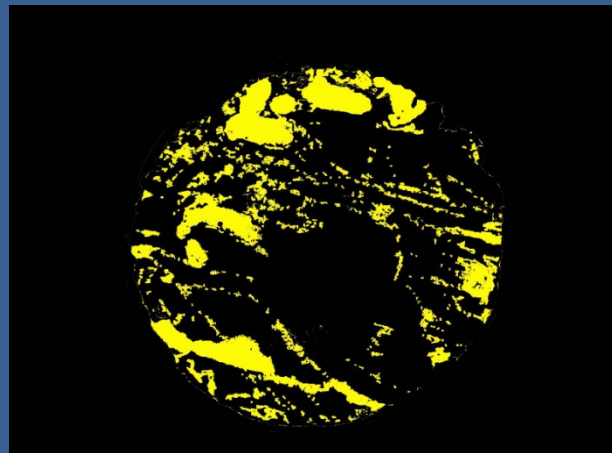
**5mm  
Pull-  
Through**



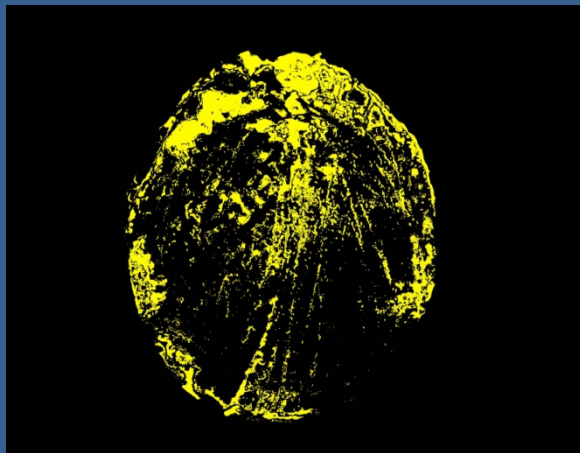
**3mm  
Busin's  
Glide**



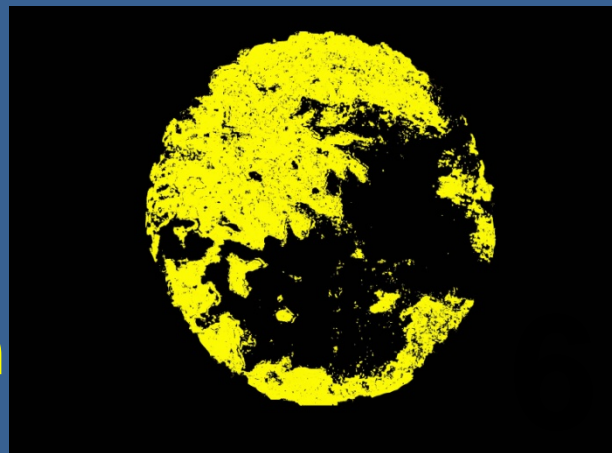
**3mm  
Forceps**



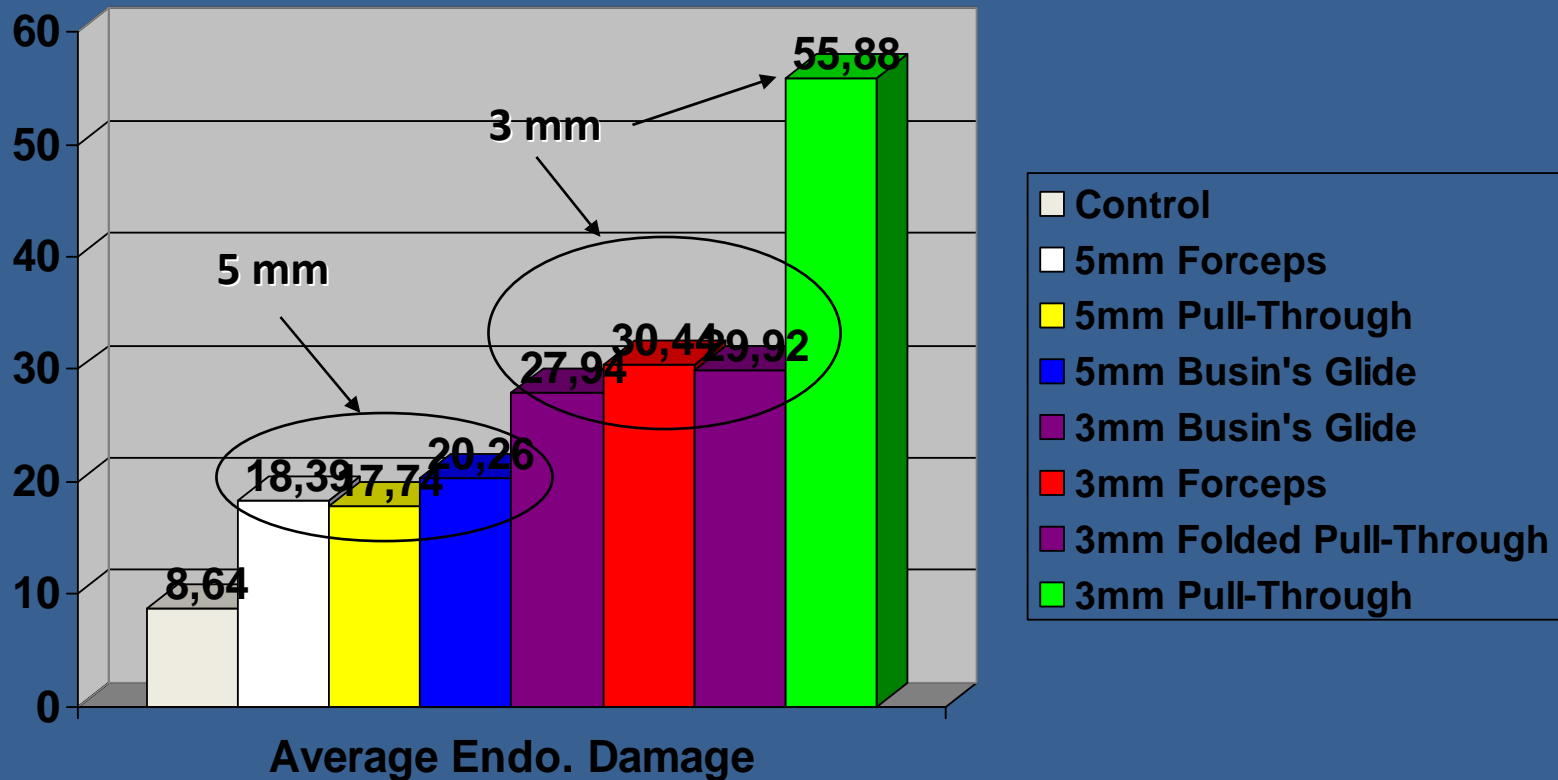
**3mm  
Folded  
Pull-  
Through**

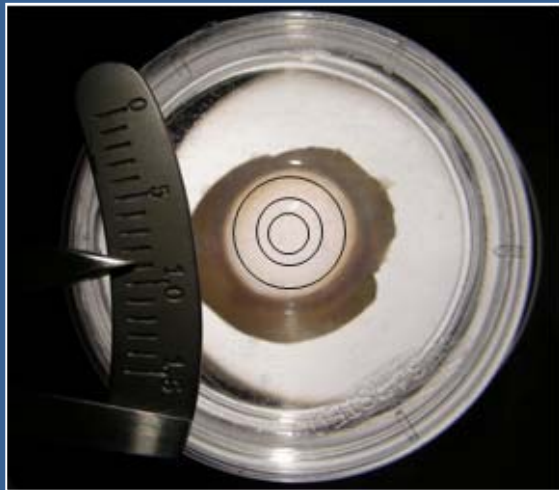
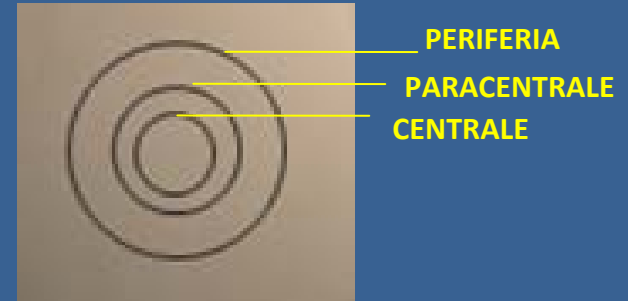


**3mm  
Pull-  
Through**



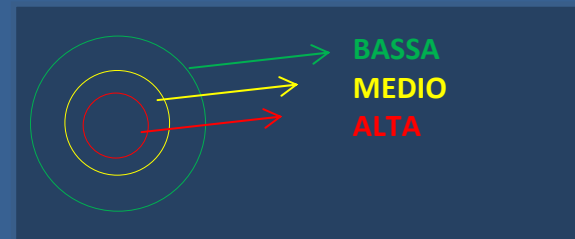
# Acute Endothelial Damage from Insertion: Incision size matters, method is less important





## ENTITA' DEL DANNO

- ✓ AREE
- ✓ DENSITA' ENDOTELIALE



# SCHEDA DI VALUTAZIONE

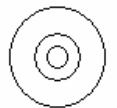
Cornea  Bulbo  N° \_\_\_\_\_ CUD: \_\_\_\_\_  
Codice unico donatore

CONSERVAZIONE A 4°C ES: Sesso: C.T.: Lotto e scadenza...  
 Data del decesso: Ora del decesso:  Altro:  
 In Camera umida  In Eusol-C dal: alle ore:  
 Metodo prelevatore: Causa del Decesso

Valutazione al microscopio ottico a 40x gg. mm. As. Ore min ESAMINATORE

Epitelio:  Normale  Edematoso  Epitelio-pella da Esposizione  A sportato  
 Stroma:  No male  Edematoso  Aroo Senile  Deteronoxon  
 Lieve  Moderato  Severo

Diametro cornea trasparente > 8.6 mm  < 8.6 mm   
 Opacità: Assenti  Presenti   

	Centrale	Paracentrale	Periferica	Mortalità:
Nubeola	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	 <input type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input type="checkbox"/> Bassa
In pronta a stampo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Leucoma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Infiltrato	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Corpo estraneo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Lesioni latrogene	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Depositi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Esiti di chirurgia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Reghe e Membrana di Descemet: Assenti  Trazione  Isoloio  Lievi  Medie  Grossolane

Note: \_\_\_\_\_  
 Valutazione al microscopio a 100x gg. mm. As. Ore min ESAMINATORE

Non eleggibile  Idonea per ulteriori procedure  Idonea per LK  Non idonea

Valutazione al microscopio ottico a 100x gg. mm. As. Ore min ESAMINATORE  
 Soluzioni di anilina: Decolorato/YES =  CaTBSS  Altro \_\_\_\_\_  
 Margini intercellulari: Omogenei = Parziali Omogenei  Irregolari   
 Morfologia endoteliale: Regolare = Rare cell. Alte  Distrofia  Non evidenti   
 Mosaiico endoteliale: Regolare = Lieve polimorf.  Irregolare  Aspetto sofferente   
 Densità endoteliale (cell./mm<sup>2</sup>, media di 6 determinazioni)  Non determinabile   
 Note: \_\_\_\_\_

PSS-L Lot: Sc: SR-S Lot: Sc: TB-S Lot: Sc: \_\_\_\_\_  
 Conclusione  OPERATORE

Idoneità per PK  Qualità: Ottima  Buona  Discreta  Sufficiente   
 Possibile durata della conservazione a 4°C 8 dd  6 dd  4 dd  3 dd  2 dd  fino a: \_\_\_\_\_  
 Rivitalizzare  Idonea per intervento urgente (conservare per 2 gg)   
 Non idonea (smaltimento)  Altro: \_\_\_\_\_  
 Destinazione: \* Boario  \*Ricerca Interna  \*esema  \*LK  \*DLK  \*Altro: \_\_\_\_\_  
 Conservazione a 31°C (vedi scheda organ. colture) di: \_\_\_\_\_ effettuata da: \_\_\_\_\_  
 Cause di non idoneità: Inidoneità del donatore  Anomalie stromali  Endotelio: mortalità  Endotelio: densità   
 Contaminazioni:  Endotelio: morfologia  Trauma meccanico  Altro: \_\_\_\_\_ N.B. Smaltimento secondo le vigenti normative italiane  
 Dell'Inseriti su Computer da: \_\_\_\_\_ alle ore: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_ (MO62/008) Giudizio



**BANCA DEGLI OCCHI**  
**CENTRO DI RIFERIMENTO REGIONALE DEL LAZIO**  
**PER GLI INNESTI CORNEALI**  
 Via di S. Giovanni in Laterano, 155 - ROMA 00184  
 tel. 06.7705.5952 fax 06.7705.5844  
 segreteria telefonica 06.7705.5845 (24 ore)

**CUD:** \_\_\_\_\_ (codice unico donatore)  
 Scheda di valutazione della cornea N° \_\_\_\_\_

**Notizie generali Medico incaricato del rilievo:**

Età: \_\_\_\_\_ Sesso: \_\_\_\_\_  
 Data del decesso: \_\_\_\_\_ Intervallo post mortem (ore-min): \_\_\_\_\_

Causa del decesso (Classific. ISTAT-OMS): \_\_\_\_\_

**Selezione del donatore Verifica effettuata da: Dr. Pocobelli**

Anamnesi per patologie trasmissibili: Negativa  
 Sierologia ed eventuale ricerca di acidi nucleici per HBV: Negativa Lue: Negativo  
 anti-HCV: Negativo anti-HIV 1 e 2: Negativo

**Valutazione al microscopio ottico effettuata il: \_\_\_\_\_ da: \_\_\_\_\_**

Epitelio: \_\_\_\_\_ Stroma: \_\_\_\_\_  
 Densità endoteliale (cell./mm): \_\_\_\_\_  
 Morfologia endoteliale: \_\_\_\_\_  
 Mosaiico endoteliale: \_\_\_\_\_  
 Pieghe membrana Descemet: \_\_\_\_\_

**Note per il chirurgo:** ASSENTE - BASA / LIEVE - DISCRETA - ELEVATA MORTALITA' ENDOTELIALE

**Modalità di conservazione**

Tipo: Liquido: Eusol-C Dal: \_\_\_\_\_  
 Tipo: Liquido: Tissue-C Dal: \_\_\_\_\_  
 Tipo: Liquido: Carry-C Dal: \_\_\_\_\_

**Utilizzare la cornea entro il:**

**Destinazione:** \_\_\_\_\_  
**Data invio:** \_\_\_\_\_ **Tipologia di impiego chirurgico:** \_\_\_\_\_  
**N.B. Tessuto, non sottoposto a processo di sterilizzazione, utilizzabile per un solo paziente.**

Data: \_\_\_\_\_ Il Responsabile della Banca





NO COMMERCIAL INTEREST IN ANY MATERIALS DISCUSSED IN THIS WORK

GRAZIE PER L'ATTENZIONE