



XV Congresso Nazionale S.I.TRA.C
Corso S.I.B.O.

**Conservazione
in coltura di lenticoli per
DSAEK**

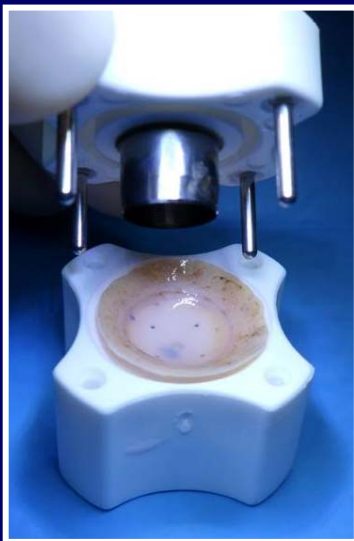
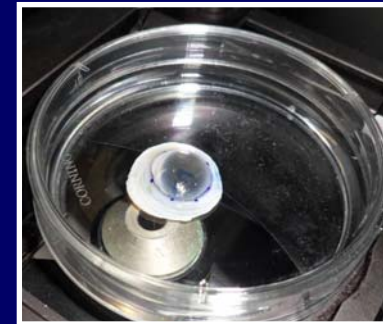
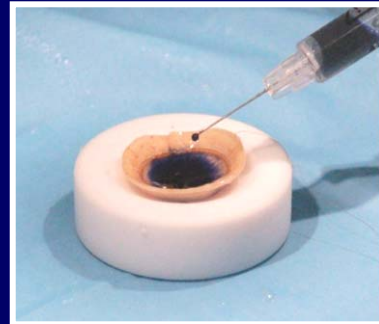
Alessandro Ruzza

Bologna - 24 Febbraio 2011

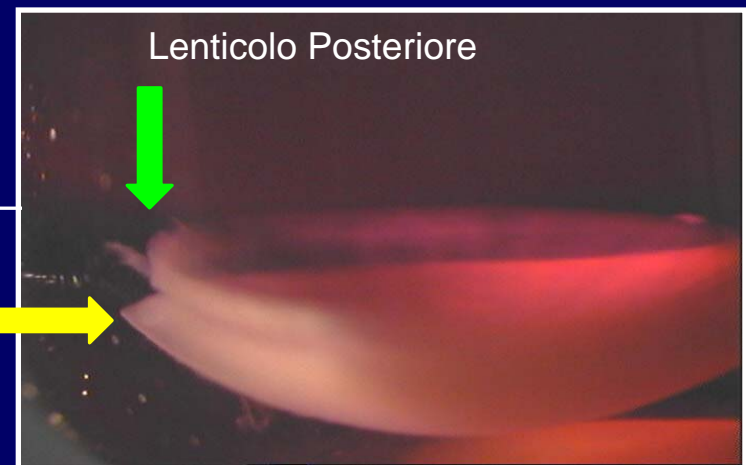
SCOPO

- Conservazione di LENTICOLI POSTERIORI
 - 7 giorni (n=17)
 - 14 giorni (n=12)
- Monitoraggio degli indicatori di qualità
 - Densità
 - Vitalità
 - Attività metaboliche
 - Spessore

PREPARAZIONE DEI LENTICOLI



Conservazione:
10 ml di MEM + 6 % Destrano a 31°C



Lenticolo
Anteriore

Lenticolo Posteriore

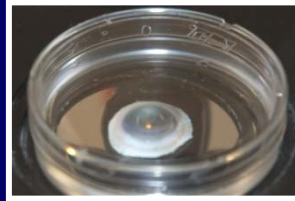
Densità endoteliale

Valutazione della densità e vitalità endoteliale con Trypan Blue / Saccarosio.

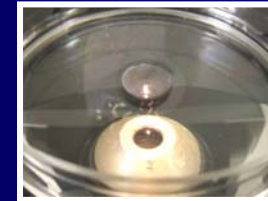
Densità
iniziale
(cell/mm²)

2271±369

(n=39)



Cornee Pre-tagliate



Lenticoli posteriori @ 31°C

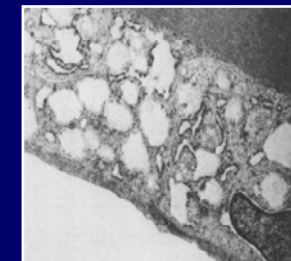
Densità (cell/mm ²)	Differenza
2255±385 (n=29)	- 0,7%

Densità 7 giorni (cell/mm ²)	Differenza
2105±417 (n=17)	- 7 %

Densità 14 giorni (cell/mm ²)	Differenza
1691±297 (n=12)	- 25 %

Cornee punzonate @ 31°C

Densità 7 giorni (cell/mm ²)	Differenza
2180±373 (n=10)	- 4 %



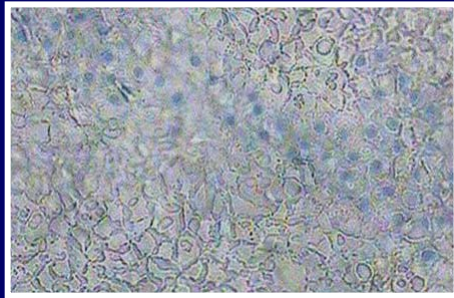
Redbrake at al .
A histochemical study of
the distribution of dextran
500 in human corneas
during organ culture .
Current Eye Research -
Volume 16, Number 5,
May 1997, pp. 405-411(7)

MORTALITÀ E DEGENERAZIONE

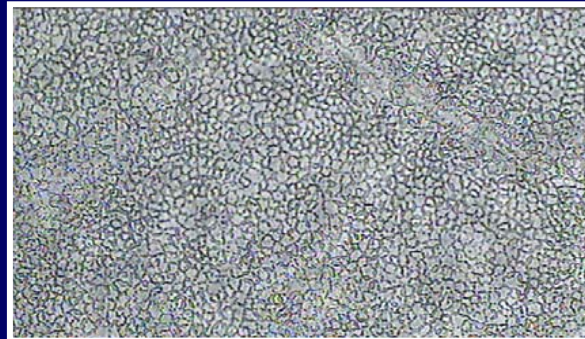
LENTICOLI POSTERIORI

7 GIORNI @ 31 °C

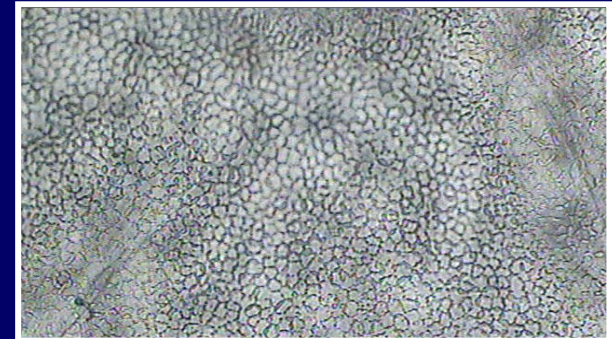
14 GIORNI @ 31 °C



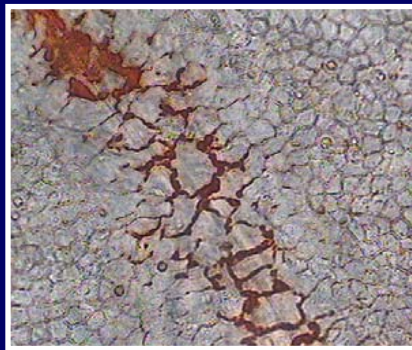
200x – Trypan blue/Saccarosio



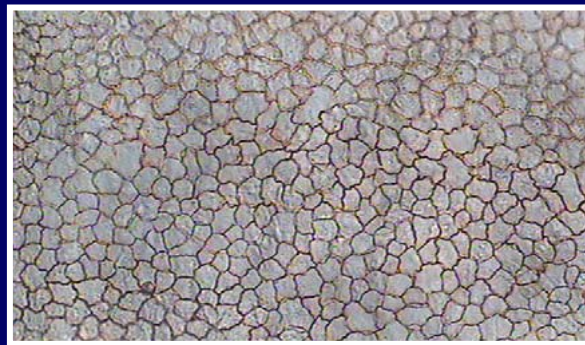
100 x – Trypan blue / Saccarosio



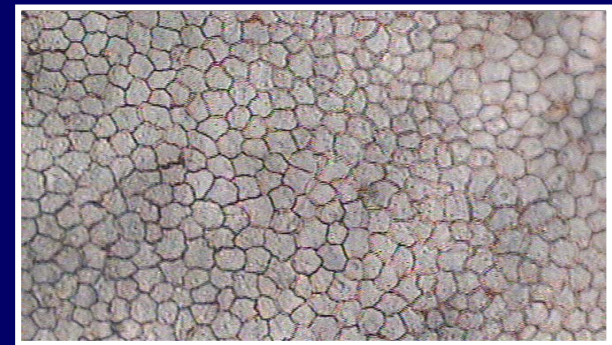
100 x – Trypan blue / Saccarosio



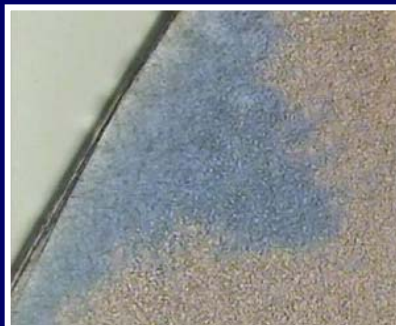
200x – Alizarina/Saccarosio



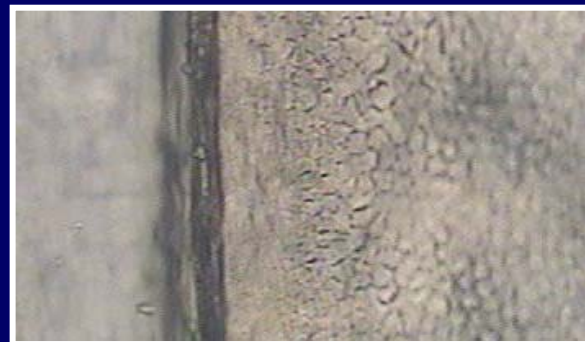
200x – Alizarina / Saccarosio



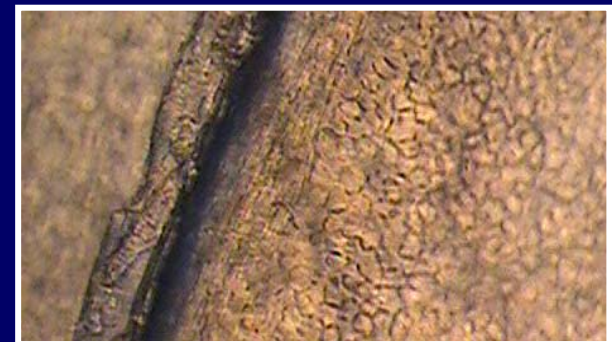
200x – Alizarina / Saccarosio



50x – Trypan Blue/Saccarosio



100 x – Trypan blue / Saccarosio



100 x – Trypan blue / Saccarosio

METABOLISMO CELLULARE

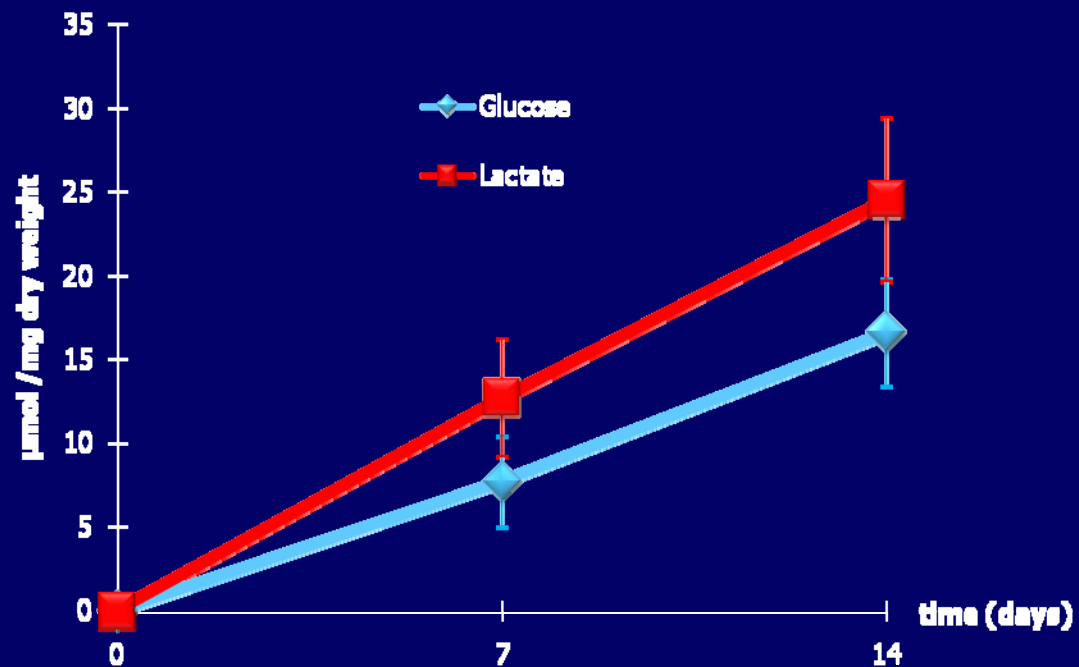
Consumo di Glucosio e produzione di Acido Lattico in 10 ml di MEM + 6% destrano

Dopo 7 giorni di conservazione (n=9)

Consumo Glucosio ($\mu\text{mol}/\text{peso secco}$)	Acido Lattico prodotto ($\mu\text{mol}/\text{peso secco}$)	Rapporto
7,1 \pm 2,1	11,9 \pm 2,5	1,8 \pm 0,6

Dopo 14 giorni di conservazione (n=6)

Consumo Glucosio ($\mu\text{mol}/\text{peso secco}$)	Acido Lattico prodotto ($\mu\text{mol}/\text{peso secco}$)	Rapporto
16,6 \pm 3,2	24,5 \pm 4,9	1,5 \pm 0,08



SPESSORE

Spessori dei lenticoli posteriori misurati dopo conservazione tramite spessimetro a molla.

Spessore Iniziale (μm)
170 \pm 59
(n=20)

Dopo 7 giorni @ 31°C

Spessore (μm)	Differenze
173 \pm 31	+ 1,8 %
(n=10)	

Dopo 14 giorni @ 31°C

Spessore (μm)	Differenze (μm)
179 \pm 81	+ 5 %
(n=10)	



Salvalaio at al. - Determinazione dello spessore di lenticoli nella cheratoplastica anteriore - Ottica e fisiopatologia 2010

CONCLUSIONI

- Conservazione di LENTICOLI POSTERIORI:
 - 7 giorni in MEM + 6 % destrano
 - Minima perdita endoteliale (-7%)
 - Mantenimento dello spessore (+1,8%)
 - Costante attività glicolitica
- Vantaggi:
 - Caratteristiche standardizzabili
 - Sicurezza in fase di preparazione
 - Rapidità dell'innesto

