

XV°
Corso Nazionale



RESPONSABILI SCIENTIFICI:
Massimiliano Corneli
Silvia Conforti

13 Maggio
2023



FABRIANO

“Efficacia e sicurezza del colorante vitale luteina/ trypan blue per la colorazione dell’endotelio corneale: studio pilota su tessuti pretrattati per DMEK”

Gemma Lodato

UOC Oculistica e Banca degli Occhi - Azienda Ospedaliera San Giovanni
Addolorata - Roma

Introduzione

- Il trypan blue può avere effetti tossici sulle cellule dell'epitelio pigmentato retinico.

Rezai KA, Farrokh-Siar L, Gasyna EM et al (2004)

- La vitalità dell'endotelio corneale dopo esposizione a trypan blue è tempo e concentrazione- dipendente.

Bart T.H. van Dooren, jin Beekhuis, Elisabeth Pels (2004)

Il colorante ***luteina/ trypan blue*** è risultato sicuro nella capsuloressi in facoemulsificazione. Nessun effetto collaterale è stato riscontrato nel follow up (30 giorni).

Vianna LM, Cohen MJ, Muccioli C et al (2014)

Obiettivo dello studio

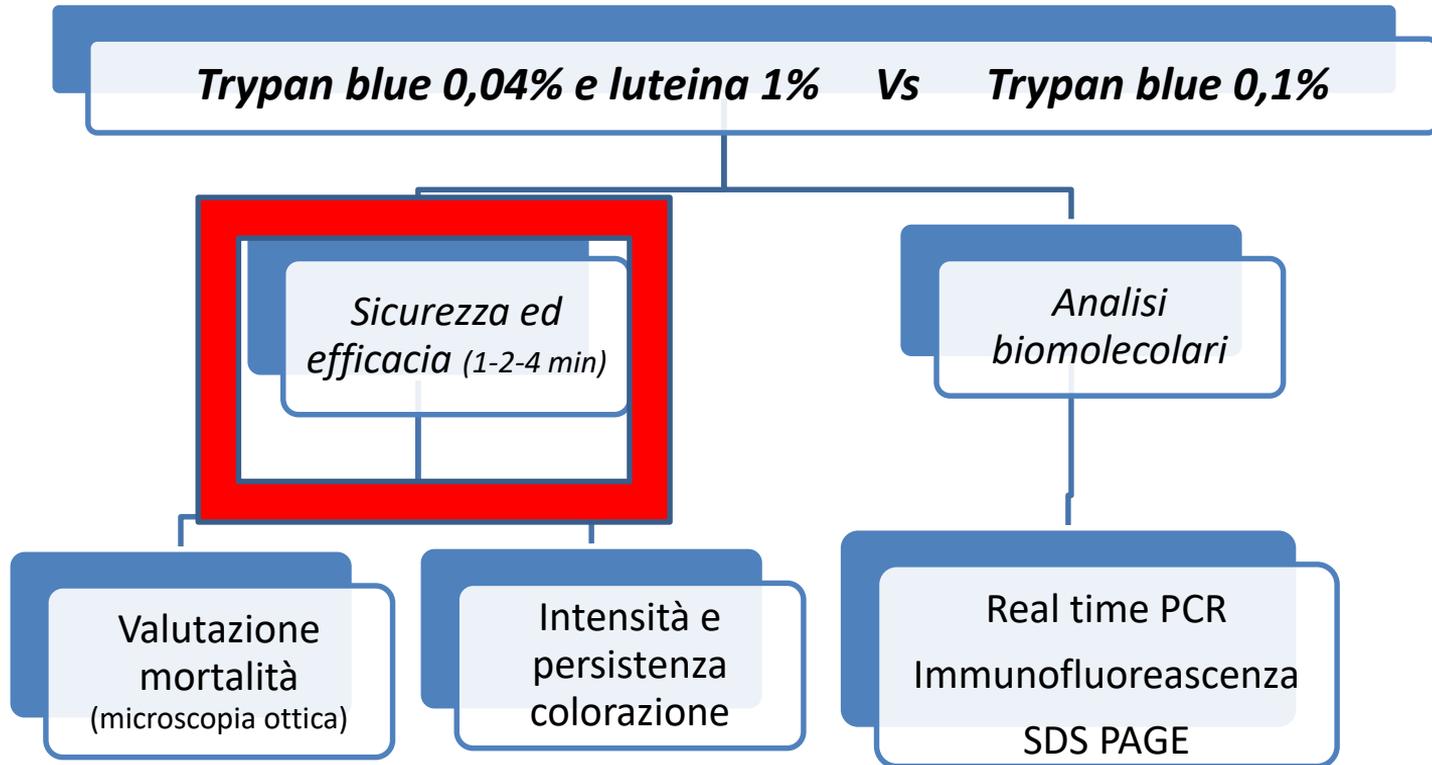


Studio comparativo

➔ *Trypan blue 0,04% luteina 1% Vs trypan blue 0,1%*

- Sicurezza (conta cellulare) ed efficacia (intensità e persistenza colorazione) sull'endotelio corneale
- Variazione nell'espressione di geni coinvolti nell'apoptosi e nel differenziamento cellulare

Materiali e metodi



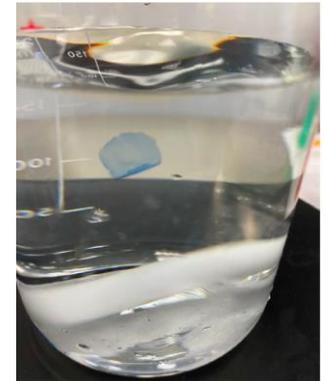
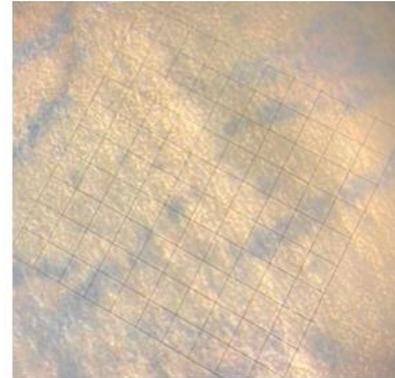
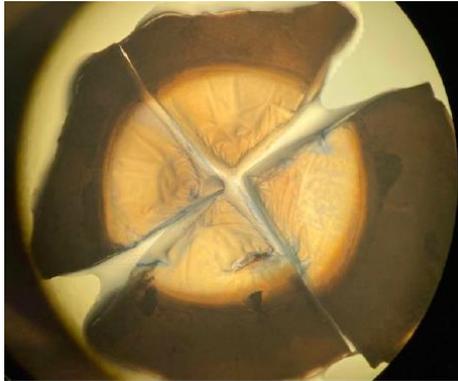
Materiali e metodi

Colorazione
endotelio
corneale
T0/ T1/T2 /T4

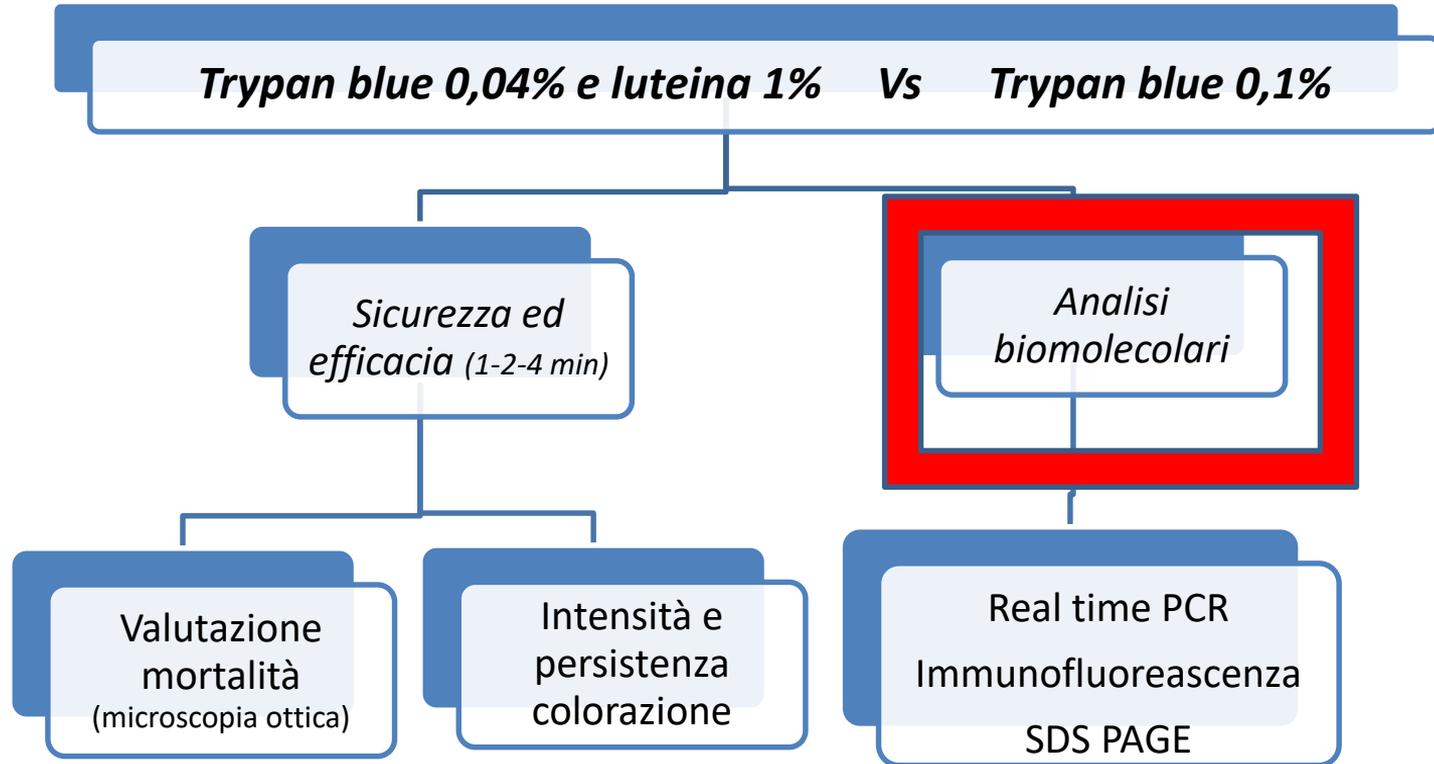
Valutazione
intensità
colorazione

Valutazione
mortalità
rispetto al
controllo (T0)

Stripping EDM
e valutazione
persistenza
colorazione



Materiali e metodi



Materiali e metodi

***Immunoreattività
alla fosfatasi acida***

***Analisi in SDS-PAGE
dalle proteine totali***

Tessuti colorati per 4
min, fissati in
formaldeide.
Stripping delle EDM
ed strazione in trizol
di DNA, RNA e
proteine.

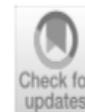
***Amplificazione dei
target apoptotici
(caspasi, BCL2, BAX)
dall' mRNA***

***Amplificazione target di
differenziamento
cellulare (TGF β , SMAD
3/7, SMA) dall' mRNA***

Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology (2023) 261:1321–1329

<https://doi.org/10.1007/s00417-022-05909-x>

CORNEA



The usefulness of lutein/trypan blue vital dye for the staining of corneal endothelium: a pilot study on DMEK pretreated tissues

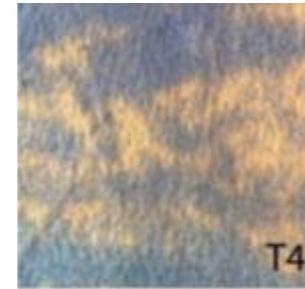
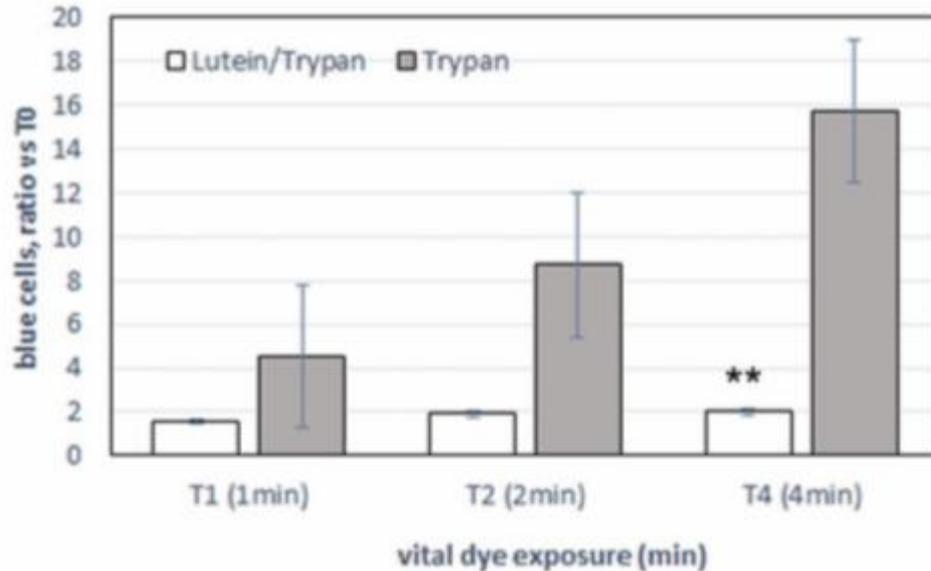
Rossella Colabelli Gisoldi¹ · Gemma Lodato¹ · Bijorn Omar Balzamino² · Graziana Esposito² · Alessandra Micera² · Augusto Pocobelli¹

Received: 28 June 2022 / Revised: 3 November 2022 / Accepted: 12 November 2022 / Published online: 29 November 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

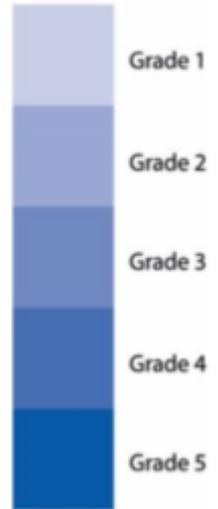
Risultati

L'efficacia dei due coloranti è paragonabile ma la mortalità al T4 è significativamente ridotta in trypan blue e luteina



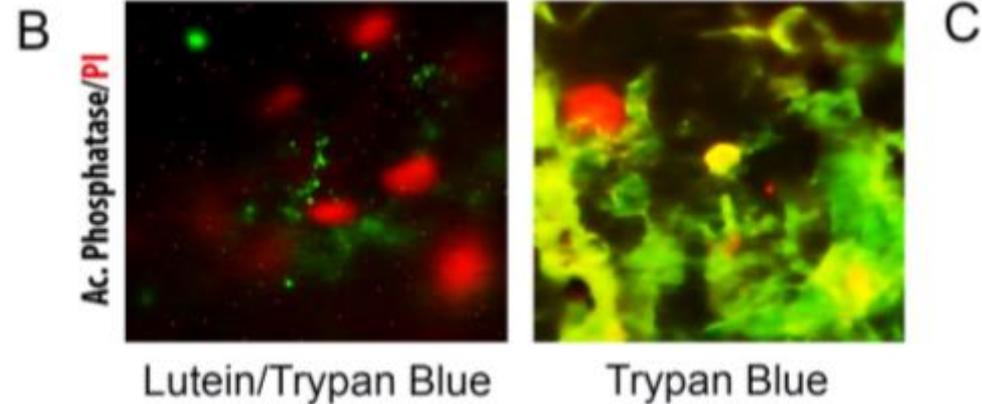
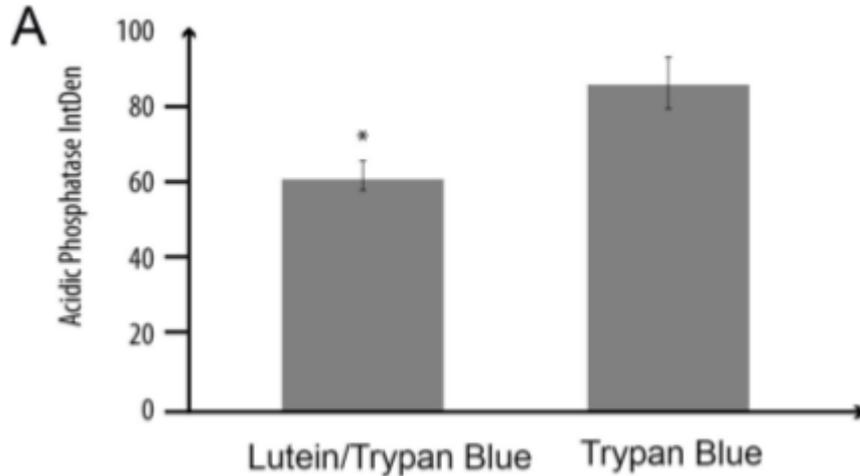
Trypan blue 0,1%

Trypan blue e luteina



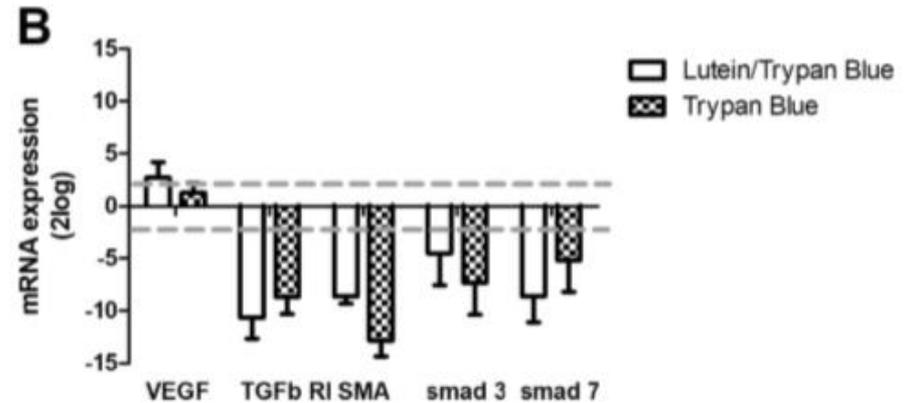
Risultati (2)

Luteina/trypan blue ha mostrato una immunoreattività alla fosfatasi acida inferiore rispetto al trypan blue



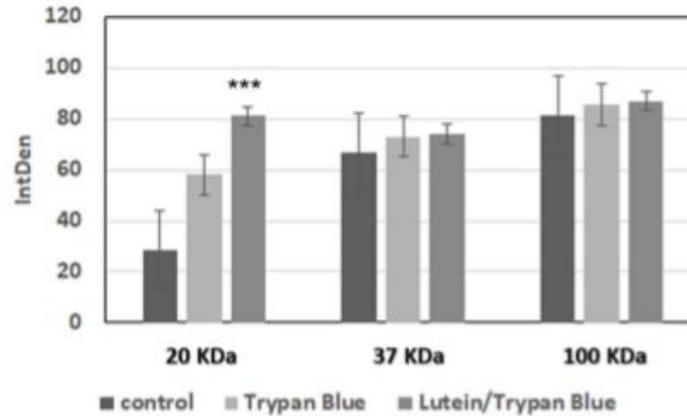
Risultati (3)

Luteina/trypan blue induce l'up-regolazione di BCL2 e la down-regolazione di BAX, mentre non altera le caratteristiche delle cellule endoteliali.



Risultati (4)

Luteina/trypan blue non influenza il profilo di espressione delle proteine totali



Conclusioni

Luteina/trypan blue risulta essere una valida alternativa per le procedure di valutazione della vitalità endoteliale dei tessuti in Banca degli Occhi e per la visualizzazione della EDM durante cheratoplastica lamellare posteriore (DMEK).

Per l'utilizzo routinario del trypan blue con luteina nella DMEK sarà utile valutare i risultati di uno studio comparativo tra i due coloranti in vivo.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE!

