



# Conservazione in coltura di lenticoli per DSAEK

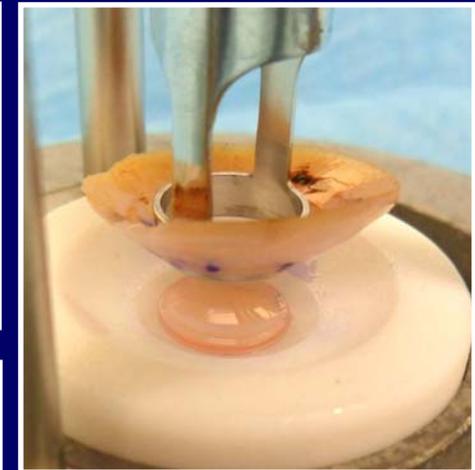
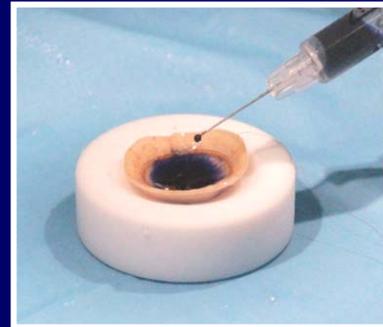
Alessandro Ruzza

Corso V SIBO  
Lucca 6 Novembre 2010

# Scopo

- Conservazione lenticoli posteriori
  - 7 giorni (n=10)
  - 14 giorni (n=10)
- Monitoraggio degli indicatori di qualità
  - Densità
  - Vitalità
  - Spessore
  - Attività metaboliche

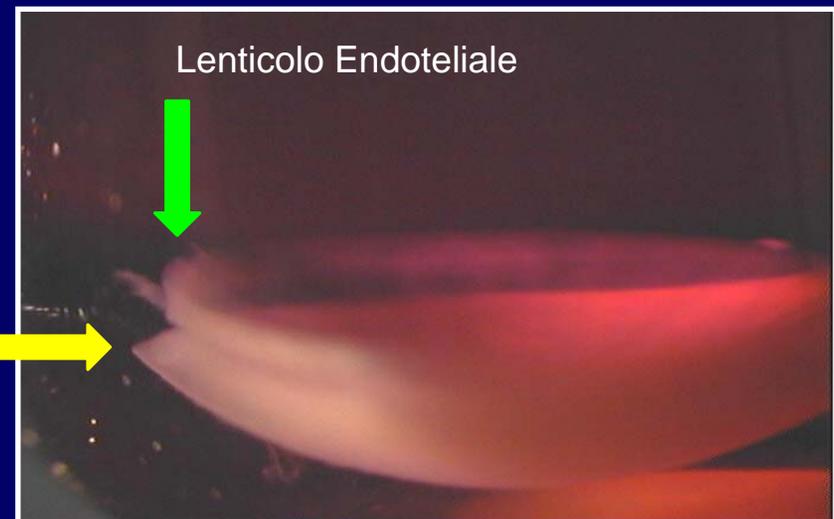
# Preparazione del lenticolo



Punzonatura a 8,5 mm



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



# Densità endoteliale

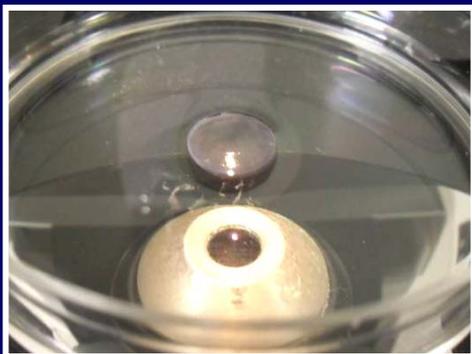
Valutazione della densità endoteliale (Saccarsio / Trypan Blue) al termine della conservazione

Dopo **7 giorni** di conservazione (n=10)

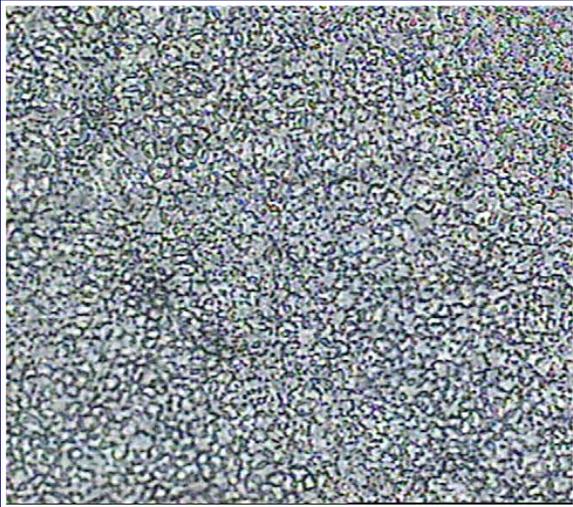
Densità iniziale (cell/mm <sup>2</sup> )	Mortalità (%)	Densità 7 giorni (cell/mm <sup>2</sup> )	Mortalità (%)	Differenza (cell/mm <sup>2</sup> )
2378 ± 216,7	0	2089 ± 161,6	0	288,9 ± 92,8 ( - 12 %)

Dopo **14 giorni** di conservazione (n=10)

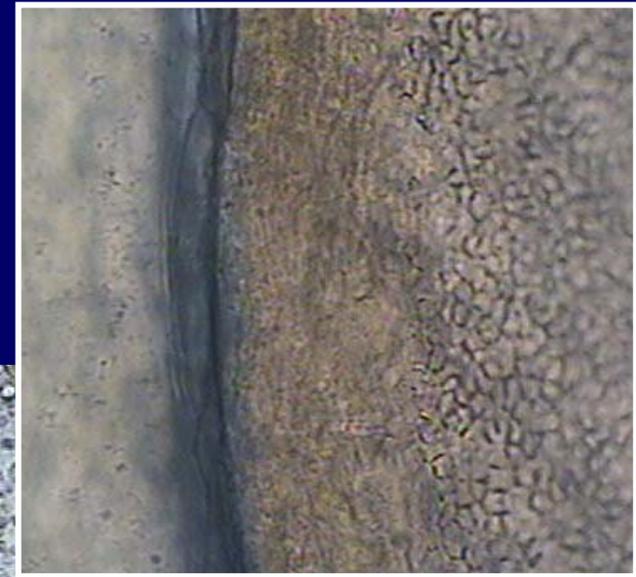
Densità iniziale (cell/mm <sup>2</sup> )	Mortalità (%)	Densità 14 giorni (cell/mm <sup>2</sup> )	Mortalità (%)	Differenza (cell/mm <sup>2</sup> )
2300 ± 303,3	0	1833 ± 332,7	0	466,6 ± 103,2 ( - 20 %)



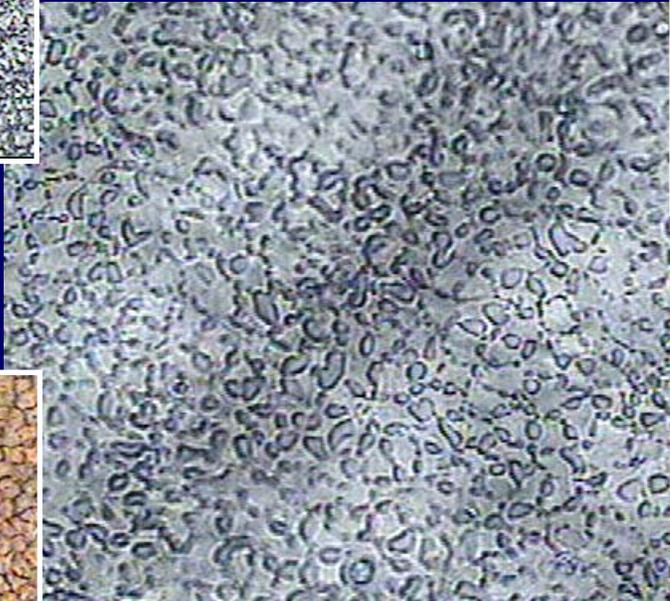
# 7 GIORNI



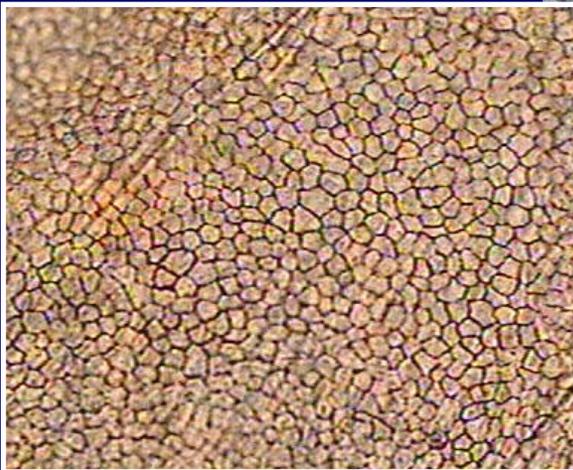
100 x – Trypan blue / Saccarosio



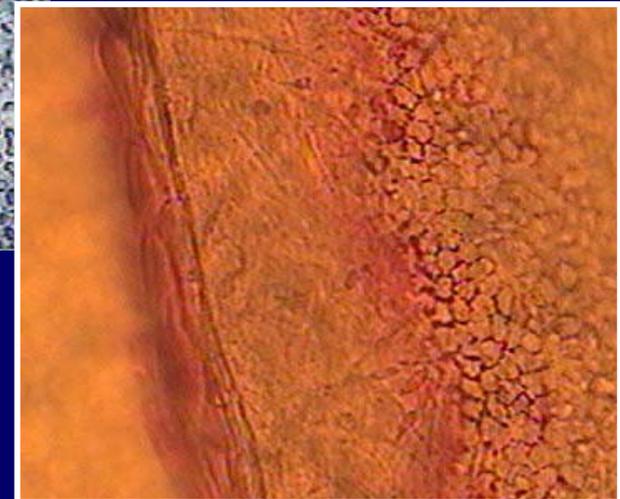
100 x - Trypan blue / Saccarosio



200 x - Trypan blue / Saccarosio



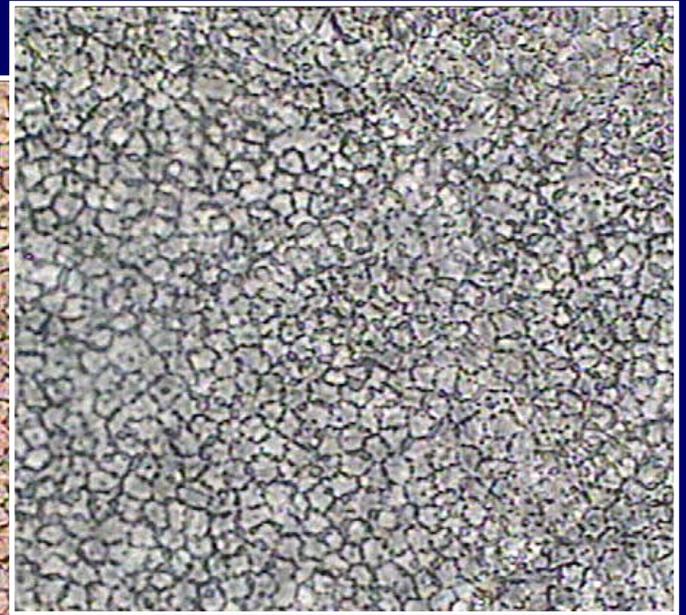
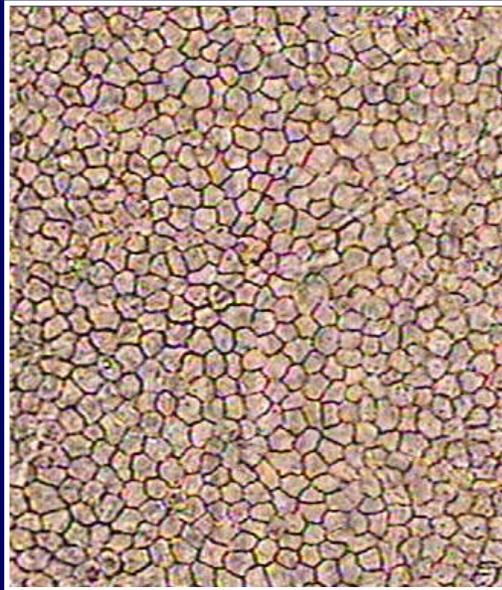
100x – Alizarina / Saccarosio



100x – Alizarina / Saccarosio

# 14 GIORNI

100x – Alizarina / Saccarosio

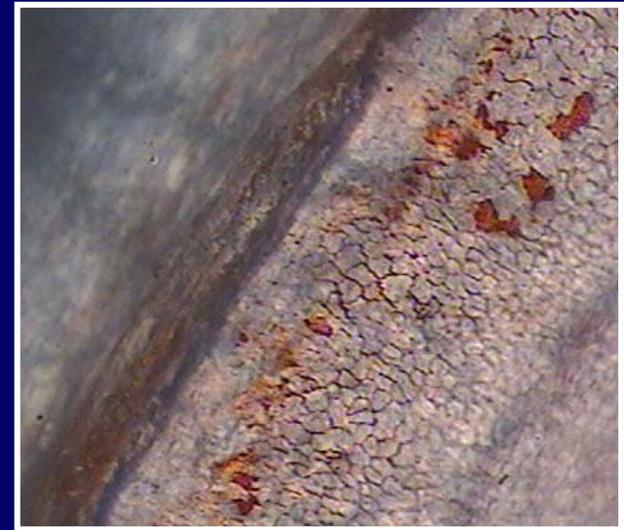
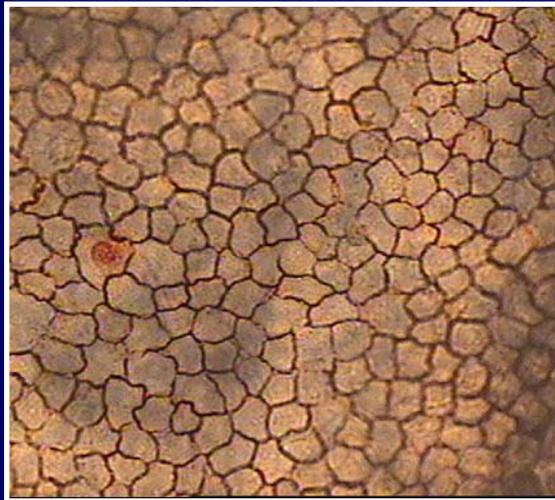


100 x – Trypan blue / Saccarosio



100 x – Trypan blue / Saccarosio

200x – Alizarina / Saccarosio



100x – Alizarina / Saccarosio

# Spessore

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

Dopo 7 giorni di conservazione (n=10)

Spessore Iniziale ( $\mu\text{m}$ )	Spessore dopo 7 giorni ( $\mu\text{m}$ )	Differenze ( $\mu\text{m}$ )
172,4 $\pm$ 36,4	275 $\pm$ 81,9	102,5 $\pm$ 71,2
		+ 59,4 %

Dopo 14 giorni di conservazione (n=10)

Spessore Iniziale ( $\mu\text{m}$ )	Spessore dopo 14 giorni ( $\mu\text{m}$ )	Differenze ( $\mu\text{m}$ )
168,8 $\pm$ 17,8	230 $\pm$ 46,9	73,2 $\pm$ 36,7
		+ 43,6 %

Spessori reali post-conservazione

Tempo di conservazione (giorni)	Spessore pre-conservazione ( $\mu\text{m}$ )	Spessore post-conservazione ( $\mu\text{m}$ )	Differenza ( $\mu\text{m}$ )
7	166	160	-6
7	202	230	28
7	188	150	-38
14	122	135	13
14	137	175	38
7	159	180	21
7	154	160	6
9	125	170	45
7	128	130	2
	153,4 $\pm$ 28,4	165,5 $\pm$ 29,5	12,1 $\pm$ 25,1
			+ 7,9 %



# Metabolismo cellulare

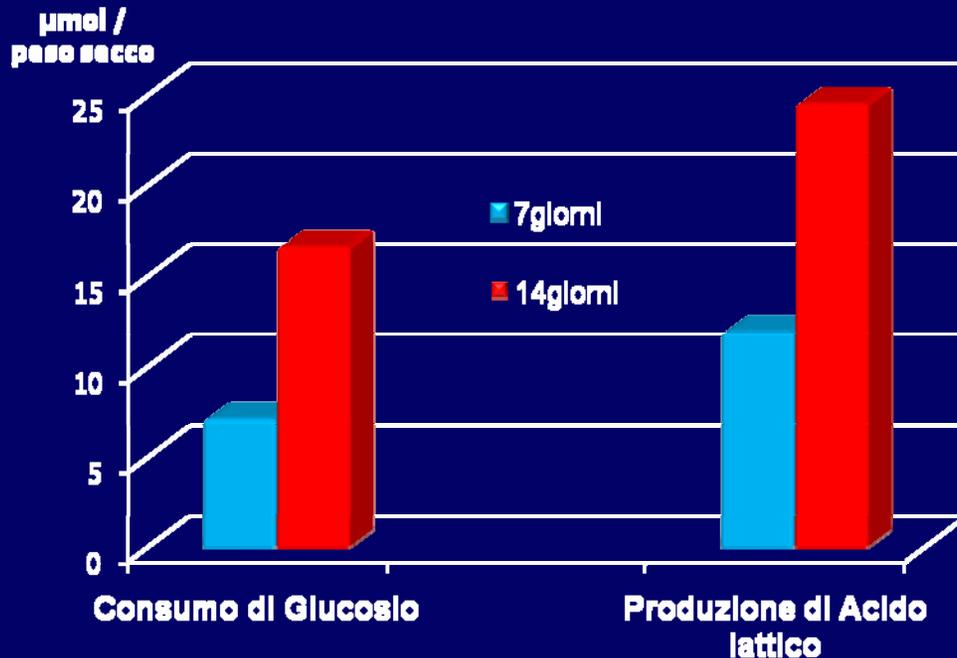
Consumo di Glucosio e produzione di Acido Lattico in 10 ml di MEM + 6% destrano

Dopo 7 giorni di conservazione (n=10)

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

Dopo 14 giorni di conservazione (n=10)

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



# Conclusioni

- Conservazione lenticolo posteriore:
  - 7 giorni in MEM + 6 % destrano
  - Minimo aumento di spessore ( + 8 % )
  - Mantenimento attività metaboliche
- Vantaggi:
  - Condizioni standardizzabili
  - Sicurezza in fase di punzonatura
  - Rapidità dell'innesto

