

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

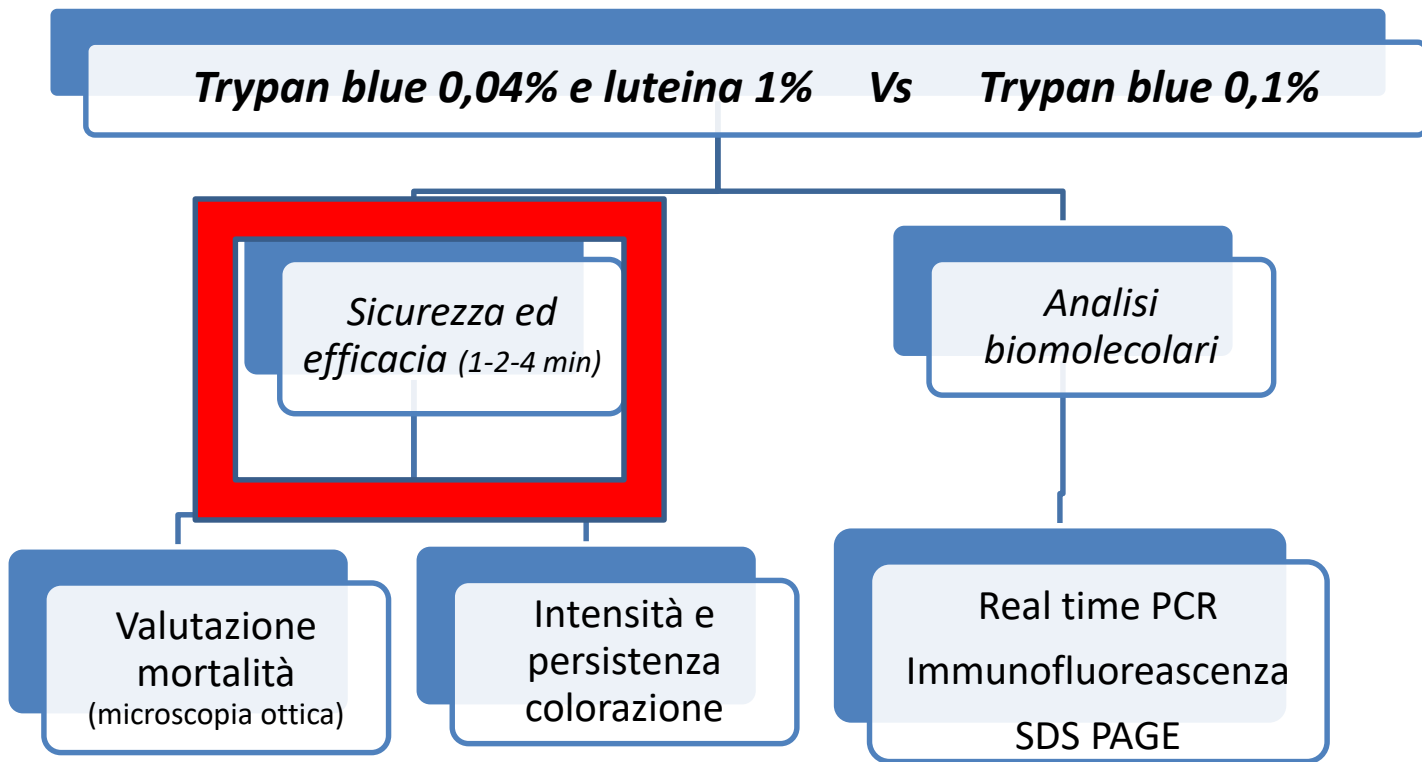


## *Studio comparativo*

➔ *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



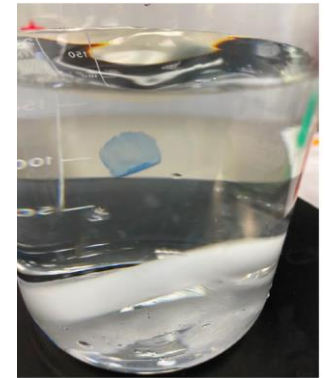
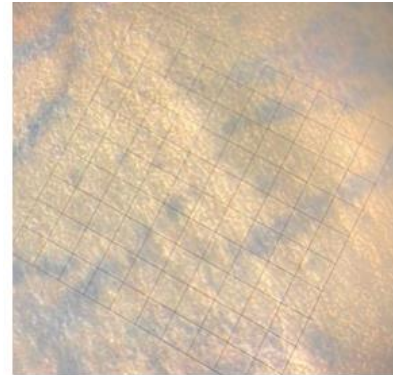
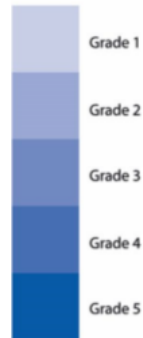
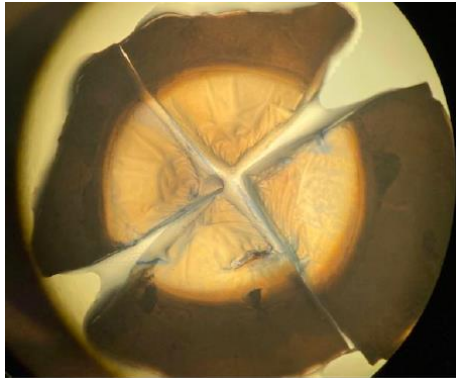
# Materiali e metodi

Colorazione  
endotelio  
corneale  
T0/ T1/T2 /T4

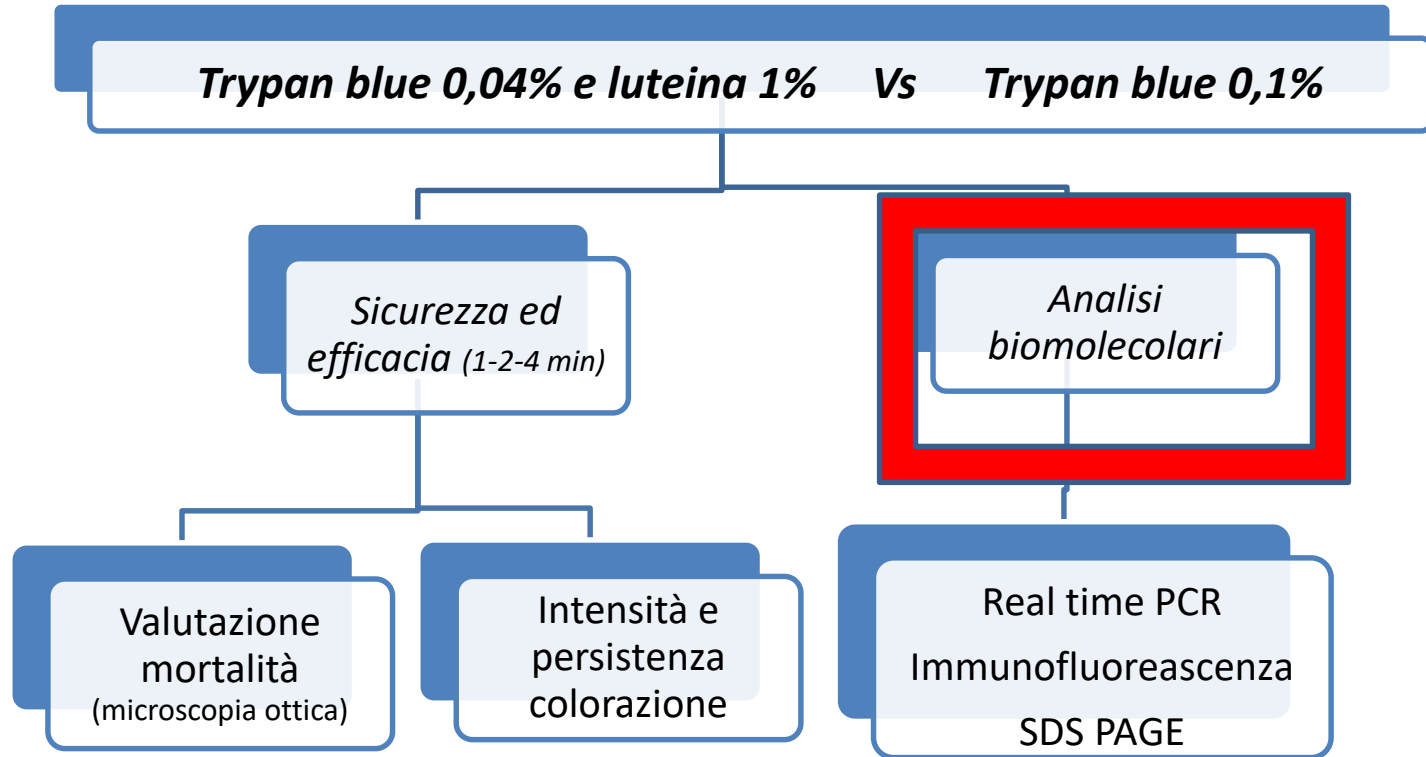
Valutazione  
intensità  
colorazione

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 $\beta$ , 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 Gisoldi<sup>1</sup> · Gemma Lodato<sup>1</sup> · Bijorn Omar Balzamino<sup>2</sup> · Graziana Esposito<sup>2</sup> · Alessandra Micera<sup>2</sup> · Augusto Pocobelli<sup>1</sup>

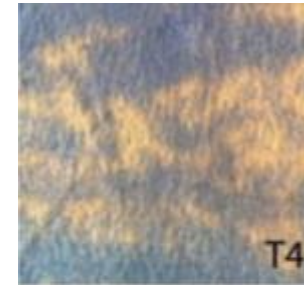
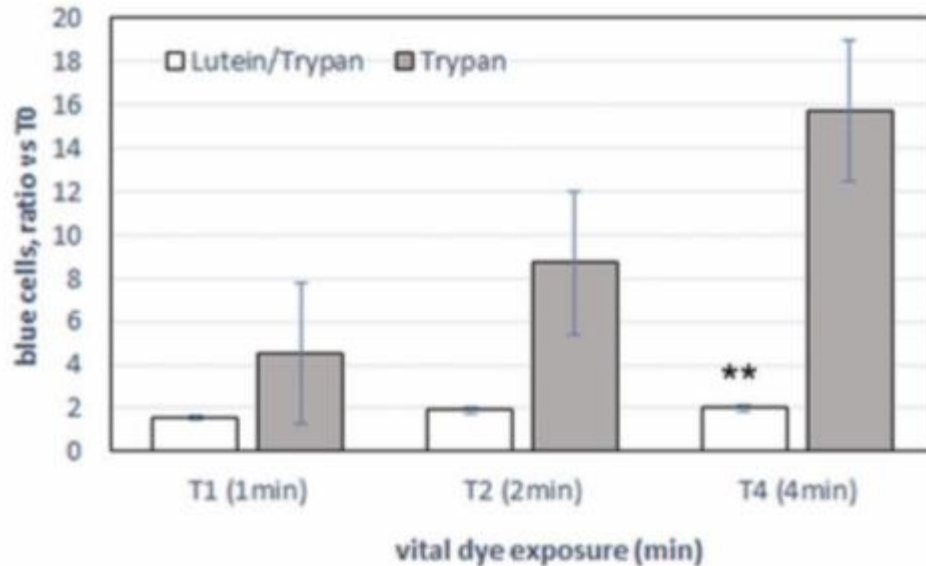
Received: 28 June 2022 / Revised: 3 November 2022 / Accepted: 12 November 2022 / Published online: 29 November 2022

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



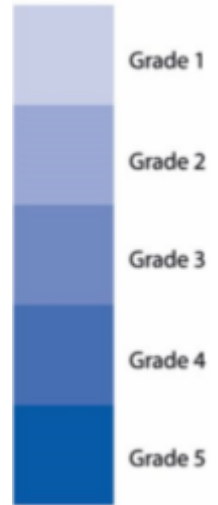
# Risultati

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



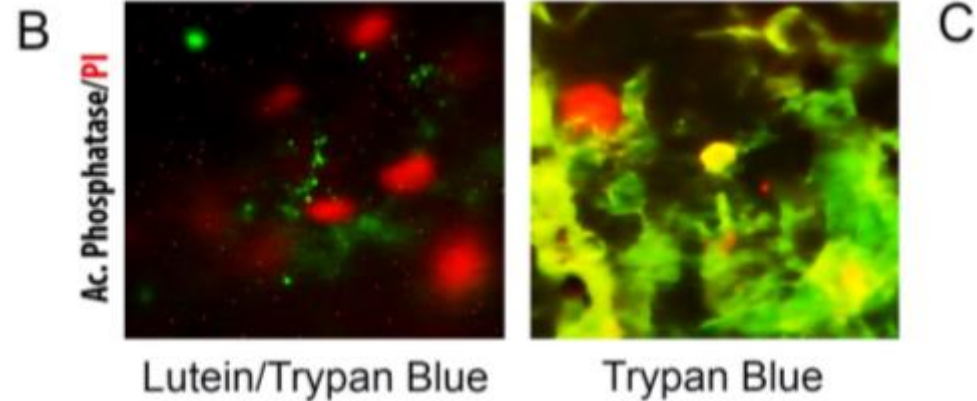
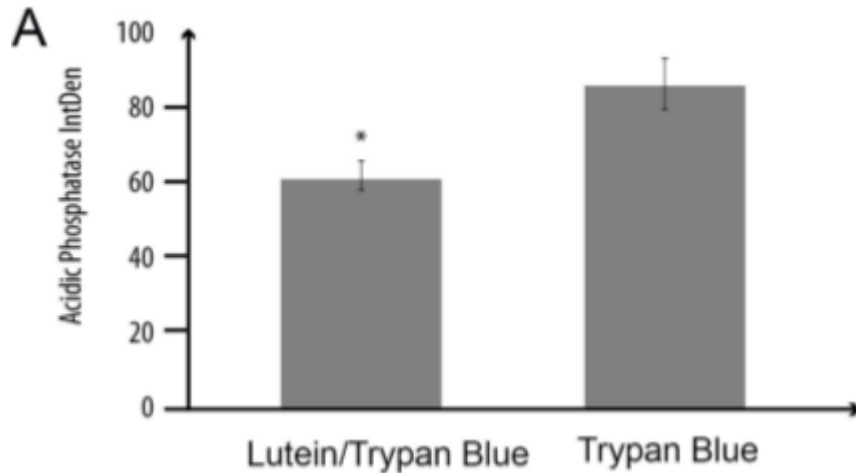
Trypan blue 0,1%

Trypan blue e luteina



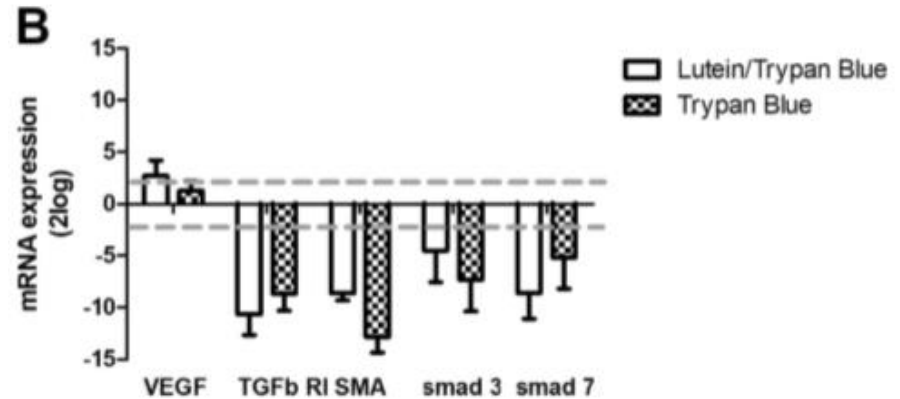
# Risultati (2)

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



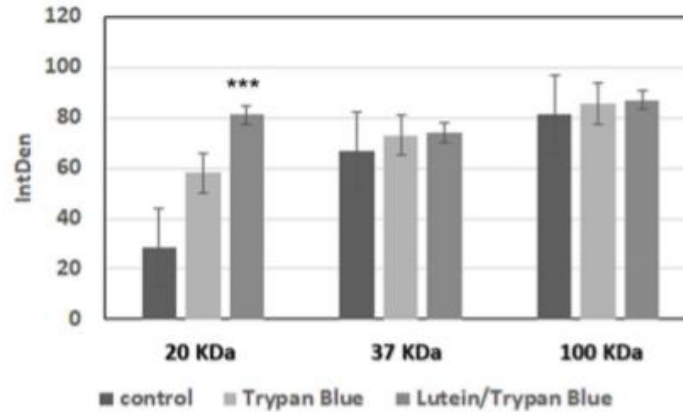
# Risultati (3)

*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!**

