

11234 27  
20J



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA FUNDACION  
CONDE DE VALENCIANA

ALTERACIONES ENDOTELIALES PRODUCIDAS POR  
ESTREPTOQUINASA. ESTUDIO EXPERIMENTAL.

FALLA DE ORIGEN

**T E S I S**

QUE PRESENTA:

**DRA. MARIA ELIZABETH GUZMAN MARTE**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

**CIRUJANO OFTALMOLOGO**

ASESOR DE TESIS:

DRA. MARIA ELENA MORALES

JEFE DE ENSEÑANZA:

DR. DAVID LOZANO RECHY



MEXICO, D. F.

1995



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**PROFESOR TITULAR DEL CURSO**

*Enrique Graue Wiechers*  
**DR. ENRIQUE GRAUE WIECHERS**

**JEFE DE ENSEÑANZA**

*David Lozano Rechy*  
**DR. DAVID LOZANO RECHY**

*Maria Elena Morales*  
**ASESOR DE TESIS**

*Maria Elena Morales*  
**DRA. MARIA ELENA MORALES**



**INSTITUTO DE  
OFTALMOLOGIA**

**FUNDACION CONDE DE VALENCIANA  
JEFATURA DE ENSEÑANZA**

**Chimalpopoca 14 México 8, D. F.  
Col. Obrera**

## **AGRADECIMIENTO:**

**A DIOS, por seguir siendo mi mejor amigo.**

**A MI FAMILIA, por su gran amor y apoyo.**

**A ROBERT, por su cariño y compañía.**

**A MARICELA Y DILCIA, por entenderme.**

**A MIS COMPAÑEROS, por su gran amistad.**

## INDICE

	<b>páginas</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>4</b>
<b>Objetivo</b> .....	<b>4</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>4</b>
<b>Materiales y método</b> .....	<b>6</b>
<b>Análisis estadístico</b> .....	<b>7</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>7</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>11</b>
<b>Referencias</b> .....	<b>12</b>
<b>Anexo</b> .....	<b>14</b>

**ALTERACIONES ENDOTELIALES PRODUCIDAS POR ESTREPTOQUINASA. ESTUDIO EXPERIMENTAL.**  
Guzmán, M.E.; Yee, R.I.; Morales, M.E.; Alanís, L. Instituto de Oftalmología "Fundación Conde de Valenciana", México D.F.

**RESUMEN**

**Antecedentes:** El uso de la estreptoquinasa intraocular todavía no ha sido aceptado en humanos. Sus propiedades fibrinolíticas y trombolíticas son ampliamente conocidas, pero sus efectos a nivel endotelial no han sido estudiados. Nuestro propósito es determinar cambios endoteliales con la aplicación intracamerular de estreptoquinasa en conejos.

**Materiales y Método:** Se utilizaron 10 conejos albinos de Nueva Zelanda a los que se les aplicó bajo anestesia disociativa y tópica 1000 unidades de estreptoquinasa en la cámara anterior del ojo derecho y solución salina balanceada en el ojo izquierdo. Se realizó microscopia especular con digitalización de imágenes con el Microscopio Especular Cooper Vision Pro CEM-4 obteniendo densidad celular, polimegatismo y pleomorfismo celular. Los estudios fueron realizados antes de la aplicación del medicamento y a las 24 horas y a la semana post-aplicación del medicamento. El análisis de los datos se obtuvo por medidas de tendencia central, t-Student y significancia estadística.

**Resultados:** El análisis de los resultados encontró disminución de la densidad celular de 7.69% en los ojos tratados con estreptoquinasa, sin embargo esto no fue estadísticamente significativo  $P > 0.05$ . No hubo alteraciones en la morfología y tamaño celular.

**Conclusiones:** La estreptoquinasa puede ser administrada intracamerularmente sin producir alteraciones significativas en el endotelio corneal.

## **ALTERACIONES ENDOTELIALES PRODUCIDAS POR ESTREPTOQUINASA. Estudio Experimental.**

### **INTRODUCCION**

La estreptoquinasa es un producto natural de ciertos grupos de estreptococo hemolítico (Lancefield) (1). Actualmente esta sustancia es llamada fibrinolisis estreptocócica, la cual es elaborada por sepas del estreptococo hemolítico (grupo A) causando infección aguda en el paciente. También es producida por algunas sepas de los grupos de estreptococos C y G (2).

Esta actúa indirectamente en un substrato de fibrina o fibrinógeno por activación de una enzima fibrinolítica en el suero humano que entonces divide la fibrina en polipéptidos, causando una rápida disolución del coágulo o exudado fibrinoide (1).

La estreptoquinasa es, por lo tanto, un catalizador que favorece la transformación de un zimógeno en sangre humana a una enzima proteolítica. Este efecto enzimático inicia inmediatamente después de la aplicación en el lugar del proceso patológico, progresa por aproximadamente 24 horas y es generalmente autolimitado (2). La cantidad de suero humano disponible limita la actividad. En el humano se encuentra una antiestreptoquinasa, la cual aparece después de la aplicación de estreptoquinasa, sin embargo no existen pruebas de la presencia de esta sustancia en cámara anterior. También se encuentra un inhibidor de suero, el cual puede ser destruido al calentar el suero a 56 grados por 30 minutos. Esto no destruye la estreptoquinasa (1,2).

Ha sido utilizada efectivamente en los casos no infectados postoperados de neumotorax, lobectomía, neumonectomía y neumólisis. En estas condiciones, la irrigación local con estreptoquinasa causa depresión de leucocitos, globulos rojos y suero. También ha sido utilizada efectivamente en enfermedades supurativas como la osteomielitis y la otitis media y en cardiología para oclusión de arterias coronarias (1,2).

La formación de fibrina intraocular es una complicación importante en cirugía ocular y en trauma severo. Es más frecuente en pacientes con vitreoretinopatía proliferativa, inflamación ocular, diabetes mellitus y trauma; llevando a la formación de membranas de fibrina y glaucoma por bloqueo pupilar(3-4).

La patogénesis de la respuesta fibrinoide postoperatoria no esta clara, pero parece influir la ruptura de la barrera hemato-ocular por la inflamación y por disfunción de la coagulación y fibrinolisis. El incremento de la permeabilidad resulta en la presencia de fibrinógeno, el cual es convertido a fibrina por acción de la trombina. La fibrina es depositada en el ojo por la acción de la plasmina generada por el sistema de fibrinolisis(3).

El manejo de la respuesta fibrinoide severa postoperatoria es usualmente inefectivo. El tratamiento va, primeramente, dirigido a la supresión de la inflamación y reestabilización de la barrera hemato-ocular utilizando corticosteroides tópicos, sistémicos y periorculares. Sin embargo ,en la actualidad ,no existe ningun medicamento que sea efectivo una vez formado el cuagulo de fibrina (3).

La heparina ha sido utilizada para prevenir la formación de fibrina transoperatoria sin resultados muy alentadores (5).

El uso de tratamiento fibrinolítico en oftalmología data de 1951 cuando Jukofsky (2) reportó el uso de estreptoquinasa en el manejo del hifema. Posteriormente, Friedman en 1952 (1) lo utiliza encontrando resultados contrarios a los reportados por Jukofsky. Desde esta época, muchos investigadores han tratado de explorar el uso de agentes fibrinolíticos como son uroquinasa, estreptoquinasa y activador del plasminógeno tisular en enfermedades obstructivas de arterias o venas retíneas, hemorragia vítrea, fallo de cirugía filtrante y formación de membranas vítreas después de vitrectomía (3, 6, 7-12).

El activador tisular de plasminógeno (tPA) ha sido aislado y caracterizado como un agente fibrinolítico específico. Se ha utilizado para la disolución de fibrina con buenos resultados experimentales y clínicos (6, 9-12). Sin embargo las indicaciones propias para su utilización, detalles específicos concernientes a la dosis, tiempo y método de aplicación no están claros (6).

En estudios más recientes, se ha demostrado la efectividad de la estreptoquinasa. Cherfan y col (13) en un estudio piloto reportan resultados alentadores en la disolución de fibrina intraocular con estreptoquinasa. El autor estudio 9 pacientes que desarrollaron fibrina intraocular después de cirugía de catarata y vitrectomía. Se administraron 1000 IU de estreptoquinasa intracamerular, a las 4 horas después de la inyección del medicamento hubo una disolución total del coágulo de fibrina en todos los pacientes. En este estudio, la disolución de la fibrina por la estreptoquinasa no estuvo asociada a ningún efecto adverso. A 5 de los 9 pacientes se les realizó microscopía especular encontrándose una disminución en el conteo de células endoteliales. Una disminución similar en el conteo endotelial ha sido observada en otros pacientes que se les realizó lensectomía y vitrectomía sin la inyección de estreptoquinasa (13).

Esta misma dosis de estreptoquinasa fue utilizada por Yee y col en un modelo experimental de inflamación en conejos obteniendo resultados favorables en el grupo tratado con estreptoquinasa comparado con un grupo control tratado con esteroides tópicos (14).

Estudios experimentales anteriores reportan toxicidad ocular con la administración de estreptoquinasa intracamerular utilizando dosis de 15,000 a 30,000 unidades (15).

O'Rourke (16) en su estudio de evaluación de estreptoquinasa intraocular hace mención de la respuesta inflamatoria reportada por Jukofsky encontrándose varios grado de edema corneal y reacción celular en camara anterior utilizando dosis elevadas. Debido a que las impurezas contenidas en la estreptoquinasa disponible no han sido aisladas y estimadas, es difícil evaluar su responsabilidad en esta reacción. Para evaluar la tolerancia del medicamento el autor administro estreptoquinasa intracamerular a diferentes concentraciones no encontrando efectos adversos ni cambios en la transparencia corneal a una concentración de 50,000 unidades por cc o menor.

El efecto de la estreptoquinasa a pequeñas dosis en el endotelio corneal humano no ha sido estudiado. El conteo de células endoteliales, pleomorfismo y polimegatismo han sido reconocidos como importantes indicadores del estado funcional del endotelio corneal (17). Algún daño en el endotelio corneal resulta en una disminución del número de celulas y un incremento en su tamaño. Las células remanentes viables aumentan de tamaño y se desplazan para cubrir la superficie posterior de la cornea. Esto resulta en polimegatismo (variación en el tamaño de las células) y pleomorfismo (variación en la forma de las células) (18).

## **JUSTIFICACION**

A nuestro conocimiento, no existe ningún estudio que evalúe los cambios en el endotelio corneal que pueda provocar la aplicación de estreptoquinasa intracamerular administrada a pequeñas dosis.

## **OBJETIVO**

Evaluar las alteraciones endoteliales producidas por la administración de estreptoquinasa intracamerular a dosis de 1000 U en 0.1 ml de solución.

## **HIPOTESIS**

La estreptoquinasa administrada a pequeñas dosis 1000 U en cámara anterior no produce alteraciones en el endotelio corneal.

## MATERIALES Y METODO

En un estudio experimental, que se llevó a cabo en el Bioterio del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana, se utilizaron 10 conejos adultos sanos de raza albinos de Nueva Zelanda.

Bajo anestesia disociativa (ketamina y xilacina administrada intramuscular) y tópica (proparacaina) y con técnica esteril, se les realizó a ambos ojos de cada conejo una parasentesis a 1 mm del limbo y se extrajo 0.1 ml de humor acuoso. Luego se aplicó en la cámara anterior del ojo derecho 1000 unidades de estreptoquinasa (Kabikinase de Kabi Pharmacia) en 0.1 ml de solución salina balanceada. Utilizando el mismo procedimiento se aplicó 0.1 ml de solución salina balanceada en el ojo izquierdo.

Se realizó microscopía especular con digitalización de imágenes en el Microscopio Especular Cooper vision PRO CEM-4. Estas se realizaron en ambos ojos de cada conejo antes de la aplicación de la estreptoquinasa y solución salina, y a las 24 horas y a la semana posterior a la aplicación del medicamento. La microscopía celular se tomó de la parte central de la cornea y se valoró densidad celular (número de células endoteliales por  $\text{mm}^2$ ), la presencia de polimegatismo (alteraciones en el tamaño celular) y pleomorfismo celular (cambios en la forma de las células).

El análisis de los datos de la microscopía especular se llevó a cabo en el sistema Bambi Video Image Versión 6.07. El sistema registra 8 imágenes en cada toma y se analiza la de mejor calidad. Para determinar la densidad celular, se realizaron por lo menos 5 cálculos tomándose como nuestros valores los promedio de estos con sus desviaciones estandar. Fue similar para pleomorfismo y polimegatismo celular.

## ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados fueron analizados estadísticamente utilizando medidas de tendencia central, t-student y significancia estadística.

## RESULTADOS

La Tabla 1 muestra la diferencia entre parámetros pre y 24 horas post-aplicación de estreptoquinasa (SK) en los ojos derechos de los conejos (Grupo experimental).

La densidad de células endoteliales disminuyó en un 7.69%, sin embargo no encontramos diferencias estadísticamente significativas ( $P>0.05$ ). La variación en el tamaño y forma celular no mostró diferencias significativas.

La Tabla 2 muestra la diferencia entre parámetros pre y 24 horas post-aplicación de solución salina balanceada (SSB) en los ojos izquierdos de los conejos (Grupo control).

La densidad de células endoteliales disminuyó en un 0.25%, lo cual no es estadísticamente significativo. No hubo alteraciones en el tamaño y morfología celular.

Cuando se comparan ambos grupos (Tabla 3) a la semana de aplicación del medicamento encontramos una disminución del número de células endoteliales

más marcada en el grupo de estreptoquinasa. No hubo diferencias significativas en cuanto a pleomorfismo y polimegatismo celular.

La Tabla 4 muestra el porcentaje de pérdida endotelial en ambos grupos a las 24 horas y a la semana post-aplicación. Donde encontramos un porcentaje de pérdida endotelial de 7.69% y 4.14% a las 24 horas y a la semana respectivamente en el grupo tratado con estreptoquinasa; y de 0.25% y 3.91% a las 24 horas y la semana respectivamente en el grupo tratado con solución salina balanceada.

#### TABLAS:

**TABLA 1.** Datos de las células endoteliales de ojos del grupo experimental.

Datos celulares	Pre-SK	Post-SK 24 h.	Diferencias	Signif. Estadística
Densidad celular	2532.3 (204)*	2337.3 (224.6)	194.9	P=0.075
Polimegatismo	0.4 (0.14)	0.38 (0.14)	0.02	P=0.45
Pleomorfismo	0.17 (0.02)	0.19 (0.026)	-0.02	P=0.09

\* Desviación Estandar

**TABLA 2. Datos de las células endoteliales de los ojos del grupo control.**

Datos celulares	Pre-SSB	Post-SSB 24 h.	Diferencias	Signif. Estadística
Densidad celular	2304.8 (251.2)*	2299 (216)	5.8	P>0.05
Polimegatismo	0.18 (0.2)	0.4 (0.27)	-0.22	P=0.07
Pleomorfismo	0.17 (0.10)	0.18 (0.03)	-0.01	P=0.91

\*Desviación Estandar

**TABLA 3. Comparación de los datos de células endoteliales, ambos grupos semana post-aplicación de medicamento.**

Diferencias pre y post	Grupo experimental	Grupo control	Diferencias
Densidad celular	194.9	5.8	189.1
Polimegatismo	0.02	-0.22	0.24
Pleomorfismo	-0.02	-0.01	-0.03

**TABLA 4. Porcentaje de pérdida endotelial, ambos grupos.**

	<b>24 horas</b>	<b>1 semana</b>
<b>Estreptoquinasa</b>	<b>7.69%</b>	<b>4.14%</b>
<b>Solución salina</b>	<b>0.25%</b>	<b>3.91%</b>

## CONCLUSIONES

Con la aplicación de medicamentos intracamerulares se pueden producir alteraciones en el endotelio corneal.

En este estudio se trató de demostrar que la estreptoquinasa intracamerular no provoca alteraciones en el endotelio corneal al aplicarse intracamerular.

Nosotros encontramos una pérdida endotelial mayor en los ojos a los que se les aplicó estreptoquinasa, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó pre y post-aplicación de medicamento. Lo que nos habla de que la pérdida endotelial no fue importante.

Nosotros consideramos que el tiempo de seguimiento en nuestro estudio fue adecuado porque la estreptoquinasa en cámara anterior tiene una vida media de 24 horas y en el conejo cuando se produce daño al endotelio corneal se inicia un proceso de regeneración con mitosis celular a las 36 horas después de ocurrido el daño. Esto explica que en nuestros resultados encontramos mayor disminución de la densidad celular a las 24 horas que a la semana post-aplicación de estreptoquinasa.

Por lo que este estudio concluye que la estreptoquinasa administrada a dosis de 1000 U intracamerular produce una ligera disminución en el número de células del endotelio corneal pero dicha pérdida no es significativa. No hay alteraciones de pleomorfismo y polimegatismo celular.

## REFERENCIAS

1. Friedman, M.W.: Streptokinase in Ophthalmology. *Am J Ophthalmol* 1952; 35:1184-1187.
2. Jukofsky, S.L.: A new technique in the treatment of hyphema. *Am J Ophthalmol* 1951; 34:1692-1696.
3. Snyder, R.W. et al: Intraocular fibrinolysis with recombinant human tissue plasminogen activator. *Arch Ophthalmol* 1987; 105: 1277-1280.
4. Macdonald, S.G. et al: Fibrin and vitreoproliferative disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25(suppl):273.
5. Johnson, R.N., Blankenship, G.: A prospective, randomized, clinical trial of heparin therapy for postoperative intraocular fibrin. *Ophthalmology* 1988; 95:312-7.
6. Vander, J.F.: Fibrinolytic therapy using tissue plasminogen activator. *Current Opinion in Ophthalmol* 1993; 4;III:56-61.
7. Holmes Sellors, P.J., Kanski, J.J., Watson, D.M.: Intravitreal Urokinasa in the Management of Vitreous Hemorrhage. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1974, 94:591-598.
8. Kohner, E.M., Hamilton, A.M., Bulpitt, C.J., Dollery, C.T.: Streptokinase in the Treatment of Central Retinal Vein Occlusion: A Controlled Trial. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1974, 94: 599-603.
9. Ortiz, J.R., Walker, S.D., McManus, P.E., Martinez, L.A., Brown, R.H., Jaffe, G.J.: Filtering Bleb Thrombolysis with Tissue Plasminogen Activator. *Am J Ophthalmol* 1988, 106:624-625.

10. Tripathi, R.C., Tripathi, B.J., Park, J.K., Quaranta, L., Steinsapir K., Lehman, E., Ernest, J.T.: Intracamerular Tissue Plasminogen Activator for Resolution of Fibrin Clots After Glaucoma Filtering Procedures. *Am J Ophthalmol* 1991, 111:247-248.
11. Williams, G.A., Lambrou, F.H., Jaffe, G.j., Snyder, R.W., Green G.D.J., Deventy R.G., Abrams, G.W.: Treatment of Post-vitreotomy Fibrin Formation With Intraocular Tissue Plasminogen Activator. *Arch Ophthalmol* 1988, 106:1055-1058.
12. Jaffe, G.J., Abrams, G.W., Williams, G.A., Han, D.P.: Tissue Plasminogen Activator for Postvitrectomy Fibrin Formation. *Ophthalmology* 1990, 97:184-189.
13. Cherfan, G.M.: Dissolution of intraocular fibrinous exudate by streptokinase. *Ophthalmol* 1991, 98: 870-874.
14. Yee, R.I. et al: Treatment with streptokinase in experimental penetrating keratoplasty in rabbits. *IOVS* 1994, vol. 35-4:2888.
15. Smillie, J.W.: The effect of streptokinase on simulated hyphema. *Am J Ophthalmol* 1954; 37:911-917.
16. O'Rourke, J.F.: An evaluation of intraocular streptokinase. *Am J Ophthalmol* 1955; 39 (# 2, Pt.2):119-136.
17. Shaw, E.L. et al: The functional reserve of corneal endothelium. *Ophthalmology* 1978; 85:640-649.
18. Yee, R.W., et al: Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *curr Eye Res* 1985; 4:671-678.

**ANEXO**

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS:**

**Conejo No.:**

**Resultados de Microscopía Especular:**

**OD (pre-estreptoquinasa) \_\_\_\_\_ (post-estreptoquinasa)**

**Densidad celular (cel./mm<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_**

**Polimegatismo: \_\_\_\_\_**

**Pleomorfismo: \_\_\_\_\_**

**OI (pre-solución salina) \_\_\_\_\_ (post-solución salina)**

**Densidad celular (cel./mm<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_**

**Polimegatismo: \_\_\_\_\_**

**Pleomorfismo: \_\_\_\_\_**