

11234

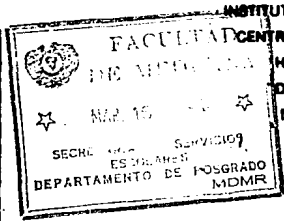


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

27
2eje

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DR. BERNARDO SEPULVEDA G.
DIVISION DE OFTALMOLOGIA**

**MODELO DE PRESERVACION EN CORNEAS DE
CONEJO UTILIZANDO SOLUCION "C" MODIFICADA
CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA.**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGIA
P R E S E N T A :
DRA. ADRIANA HERNANDEZ LOPEZ



IMSS

MEXICO, D. F.

FEBRERO 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

"DR. BERNARDO SEPULVEDA G".

DIVISION DE OFTALMOLOGIA

**MODELO DE PRESERVACION EN CORNEAS DE CONEJO UTILIZANDO SOLUCION "C"
MODIFICADA CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA.**

TESIS DE POSGRADO

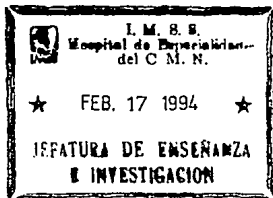
**Que para obtener el Título de
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGIA**

Presenta:

DRA. ADRIANA HERNANDEZ LOPEZ

México D.F. a 28 de Febrero de 1994

VISTO BUENO



DR. NIELS H. WACHER RODARTE
Jefe de Enseñanza e Investigación
Hospital de Especialidades
Dr. Bernardo Sepúlveda G.
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR. ALBERTO OSIO SANCHO
Jefe de la División de Oftalmología
Hospital de Especialidades
Dr. Bernardo Sepúlveda G.
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR. MARIO DANIEL MERCADO MARTINEZ
Médico Adscrito al Servicio de Córnea
División de Oftalmología
Hospital de Especialidades
Dr. Bernardo Sepúlveda G.
Centro Médico Nacional Siglo XXI

**A mis padres, hermanos, familia
y todas aquellas personas que
han contribuido a mi formación,
brindo este pequeño logro.**

**MODELO DE PRESERVACION EN CORNEAS DE CONEJO UTILIZANDO SOLUCION "C"
MODIFICADA CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA.**

AUTOR

DRA. ADRIANA HERNANDEZ LOPEZ

COLABORADORES

**DR. JOSE ADRIAN ROJAS DOSAL
DR. CARLOS M. DIAZ CONTRERAS PIEDRAS
DR. MARIO D. MERCADO MARTINEZ
DRA. NURIA GISPERT
DR. ALBERTO CHOUSLEB KALACH
Q.F.B. GLORIA E. CISNEROS PINEDA**

RESPONSABLE

DR. MARIO D. MERCADO MARTINEZ

**DEPARTAMENTO DE CIRUGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**DIVISION DE OFTALMOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

INDICE

| | |
|-----------------------------------|----|
| Antecedentes..... | 1 |
| Planteamiento del problema..... | 2 |
| Método y diseño experimental..... | 2 |
| Ilustraciones..... | 9 |
| Resultados..... | 14 |
| Discusión y conclusiones..... | 33 |
| Bibliografía..... | 36 |

MODELO DE PRESERVACION PARA CORNEAS DE CONEJO UTILIZANDO SOLUCION C MODIFICADA CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA.

En la actualidad existen varios métodos para la preservación de córneas, se tienen medios de cultivo asociados con tiempos prolongados de preservación, algunas técnicas de criopreservación e incontables soluciones asociadas con mayores o menores cantidades de condroitín sulfato, lo que las hace sumamente caras e inaccesibles a nuestro medio y técnicamente difíciles en su preparación y manejo. Sabemos que el éxito del trasplante corneal depende de una adecuada técnica quirúrgica, pero sobre todo de una cantidad adecuada de endotelio viable en la córnea donadora, que se logra si el almacenamiento de dicha estructura es adecuada y permite la menor destrucción de las células endoteliales.

El objetivo de este trabajo fue demostrar que la solución C modificada es una buena alternativa como solución preservadora de córneas, siendo esta tan funcional, costeable, de fácil preparación y manejo, que las disponibles hasta el momento. Se analizó el comportamiento microestructural de la córnea de conejo con tiempos prolongados de preservación e hipotermia.

En este estudio se utilizaron 12 conejos (24 córneas) adultos de 3-5 kg de peso, no importando el sexo, vacunados, desparasitados, bajo dieta balanceada y sin ningún signo de patología ocular. Los cuales se sacrificaron con pentobarbital sódico. Con técnica aseptica se obtuvo el boton corneal y se sumergió en la solución preservadora en campana de flujo laminar. Se realizaron 05 grupos de estudio y el grupo control, que constaron de 4 córneas cada uno, variando el tiempo que se encontraban sumergidas en la solución modificada e hipotermia a 4o. centígrados. (24 hrs, 48 hrs, 05 días, 07 días y 08 días), posteriormente se fijaron en glutaraldehído para su estudio de microscopia de luz, semifinos y electrónica.

Se describen las alteraciones encontradas en las capas de la córnea, haciendo especial énfasis en el comportamiento normal de las células endoteliales y el número de las mismas por campo. para poder tener parámetros de comparación con el resto de los grupos estudiados y comprobar la eficacia de la solución utilizada.

PROSPECTIVO, LONGITUDINAL, COMPARATIVO Y EXPERIMENTAL.

**MODELO DE PRESERVACION EN CORNEAS DE CONEJO UTILIZANDO SOLUCION "C"
MODIFICADA CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA.**

**HERNANDEZ LOPEZ A.; ROJAS DOSAL J.A.; DIAZ CONTRERAS PIEDRAS C.M.;
MERCADO MARTINEZ M.D.; GISPERT C.N.; CHOUSLEB KALACH A.; CISNEROS
PINEDA G.E. -DEPARTAMENTO DE CIRUGIA. -DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA.
FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
-DIVISION DE OFTALMOLOGIA. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.**

I.I. ANTECEDENTES

El uso de algunas soluciones de preservación, además del almacenamiento en frío, se han utilizado con éxito en algunos órganos como riñón, hígado e intestino, lo que ha permitido realizar trasplantes de órganos con resultados satisfactorios.⁽¹⁻¹⁰⁾

Dichas soluciones se propusieron con base en el estudio de los mecanismos de daño celular al que son sometidos los órganos en isquemia y posteriormente son trasplantados.

En la actualidad existen varios métodos para preservar córneas, se tienen medios de cultivo asociados con tiempo prolongado de preservación, algunas técnicas de criopreservación, e incontables soluciones asociadas a mayores o menores cantidades de condroitín sulfato⁽¹⁰⁻²⁶⁾, lo que las hace sumamente caras e inaccesibles a nuestro medio y técnicamente difíciles de preparación y manejo.

Sabemos que el éxito del trasplante corneal depende de una adecuada técnica quirúrgica, pero sobre todo de una cantidad adecuada de endotelio viable en la córnea donadora que se logra si el almacenamiento de dicha estructura es adecuada y permita la menor destrucción de células endoteliales.⁽¹⁰⁻³⁰⁾

El mecanismo de daño estudiado y explicado en otros órganos no es del todo aplicable al observado en la córnea ni en otras estructuras oculares, a la fecha aún no ha quedado esclarecido y creemos que esto es motivo para futuras investigaciones.

I.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPOTESIS

La solución "C" modificada, es útil para preservar córneas, se logra obtener con un menor costo, es accesible a nuestro medio y tiene las mismas propiedades protectoras del endotelio corneal que otras soluciones mas costosas utilizadas hasta el momento.

El objetivo del trabajo es demostrar que la solución "C" modificada se puede obtener con menor costo, es técnicamente fácil de preparar y se analizará el comportamiento microestructural de la córnea de conejos con tiempos largos de preservación e hipotermia en esta solución.

II. METODOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

II.1. METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTOS

II.1.1.IMPLICACIONES

Se seguirán todos los cuidados y tratamientos de los animales experimentales según lo estipula la Sociedad Protectora de Animales en México, evitando SIEMPRE el sufrimiento de ellos, pasándoles visita diaria, realizando aseo dos veces al día y alimentándolos con dieta balanceada y agua a libre demanda, así como administración de antibióticos en los casos necesarios para evitar infección.

II.1.2. PROCEDIMIENTOS PELIGROSOS

No existe ningún peligro para los investigadores ni para el personal paramédico que los maneje.

II.1.3. EN CASO DE INVESTIGACION CLINICA ANEXAR HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADA

No se realizará Investigación Clínica en esta etapa del proyecto.

II.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS DE RESULTADOS

En este estudio se utilizaran 12 conejos adultos de 3 a 5 Kg de peso no importando el sexo, vacunados y desparasitados, bajo dieta balanceada, observación previa de una semana y sin ningún signo de infección ocular (foto.01).

Bajo anestesia general endovenosa con pentobarbital sódico (25mg/kg de peso), se realizará toma de botón córnea bajo técnica aséptica estricta, luego de la cual se procederá al sacrificio del animal con sobredosis de pentobarbital (foto.02).

TECNICA QUIRURGICA

- Antisepsia de regiones orbitarias con cloruro de benzalconio al 12%
- Colocación de campos estériles, delimitando regiones orbitarias

- Colocación de blefarostato inicialmente en ojo derecho
- Lavado ocular con solución Hartman
- Peritornia perilmbica en los 360 grados
- Incisión escleral 2 mm atrás del limbo esclerocorneal en el M de las XII
- Penetración del globo ocular
- Corte de esclera en la incisión previa, completando en los 360 °
- Toma del botón corneoescleral
- Colocación del botón corneoescleral en la solución C modificada
- Se repite la técnica para toma del botón corneal contralateral.

ELABORACION DE LA SOLUCION "C" MODIFICADA PARA USO CLINICO/EXPERIMENTAL

**KH₂PO₄, H₂HPO₄, KCL, NaHCO₃, GLUCOSA, MgSO₄-7H₂O, H₂O c.b.p.
1000ml . pH 7.0 osmolaridad 370 mOsm/l.**

- Disolver las sales de KH₂PO₄, KCL y NaHCO₃ en agua destilada y aforar a 800 ml con esta misma.
- De igual forma disolver la glucosa, aforando a 100ml, disolver el MgSO₄-7H₂O, aforando a 100ml; cada uno de estos por separado.
- Esterilizar en autoclave a 15 lb/in², 15 minutos a 121° C.
- Mezclar en condiciones estériles las preparaciones anteriores agregando la solución de glucosa y agitar enérgicamente.
- Ajustar el pH a 7.0 en condiciones estériles con HCL concentrado (previa esterilización de éste)

nota: *para la preparación de la solución se dispone de campana de flujo laminar (foto 03).

*todas las soluciones al agregarse son filtradas con organza previamente esterilizada.

Se realizarán 06 grupos de estudio, que constarán de 04 córneas cada uno, variando el tiempo en el que se encontrarán sumergidas en la solución "C" modificada e hipotermia a 4 grados centígrados, posteriormente se fijaran en glutaraldehído para su estudio de microscopía de luz, en cortes semifinos y microscopía electrónica.

Las primeras 04 córneas extraídas serán inmediatamente fijadas para formar el grupo control.

Los siguientes grupos serán observados por espacio de 24 horas (01 día), 48 horas (02 días), 05 días, 07 días y 08 días preservadas en 20 cc de solución "C" modificada a 4 grados centígrados.

La colocación del botón corneal en la solución propuesta se realizará en condiciones de máxima asepsia.

La temperatura a la que se someterán de acuerdo al tiempo de observación, se registrará con termómetro para verificar que siempre se encuentre a 4 grados centígrados.

La toma del botón corneal, siempre será realizada por el mismo investigador, así como la preparación de la solución se efectuará 24 horas antes del procedimiento por el mismo investigador con asesoría del químico farmacobiólogo.

En el estudio de microscopía electrónica se describirán las alteraciones encontradas en cada capa de la córnea, haciendo especial énfasis en el comportamiento normal de las células endoteliales y el número de las mismas por campo, para poder tener parámetros de comparación entre los grupos estudiados.

Para el análisis microestructural de las córneas se utilizará técnica estandarizada para las preparaciones.

Se realizará análisis de 30 cortes por córnea.

III. FACILIDADES DISPONIBLES

III.I INSTALACIONES

Quirófanos del área de Investigación del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

Laboratorio de Microcirugía del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

Laboratorio de Bioquímica del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

Central de Equipos y Esterilización del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

Unidad de Microscopía Electrónica del Departamento de Histología de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

Bioterio del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

IV. APOYO SOLICITADO

IV.2 GRUPO 400

- Guantes estériles
- Paquetes de gasas estériles
- Soluciones antisépticas
- Jeringas desechables
- Mariposas No. 23 para canalización
- Solución Hartman
- Recipientes de vidrio estériles
- Tela adhesiva
- Campos estériles
- Pentobarbital sódico
- Solución C modificada

INSTRUMENTAL DE ESPECIALIDAD

- Blefarostato (diseño original)
- Bisturí con hojas No.15
- Tijera de Tenotomía
- Tijeras de Córnea (derecha e izquierda)

V. METAS

-PRESENTACION EN CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES

-PUBLICACION EN REVISTAS NACIONALES E INTERNACIONALES

VI. DURACION DEL ESTUDIO EXPERIMENTAL

-Fecha de inicio: mayo 1991

-Fecha de terminación: noviembre de 1992

VII. OBSERVACIONES

Para la toma del Botón corneal se diseñó un BLEFAROSTATO, adaptado al ojo del conejo, en la Unidad de Ingeniería Biomédica del Departamento de Cirugía de la Universidad Nacional Autónoma de México (foto. 04).

Diseño del Blefarostato: INGENIERO JORGE GARCIA LOYA.

ILUSTRACIONES

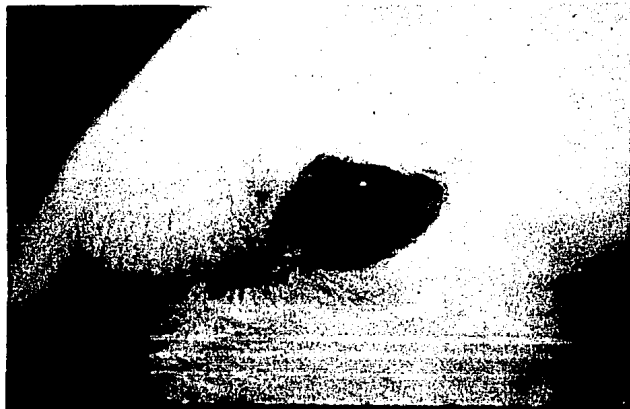
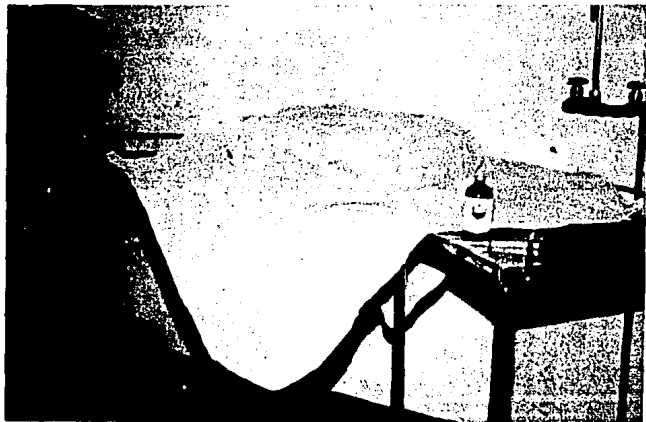
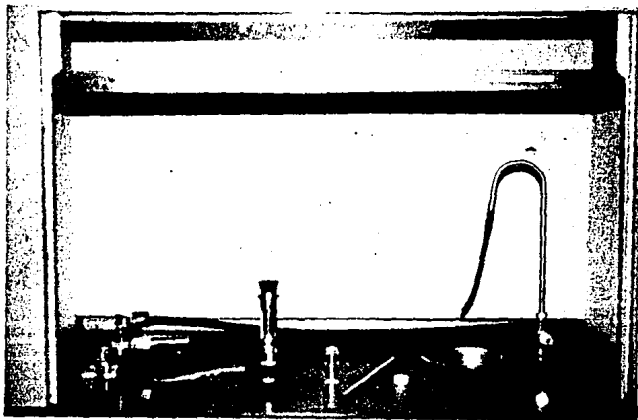


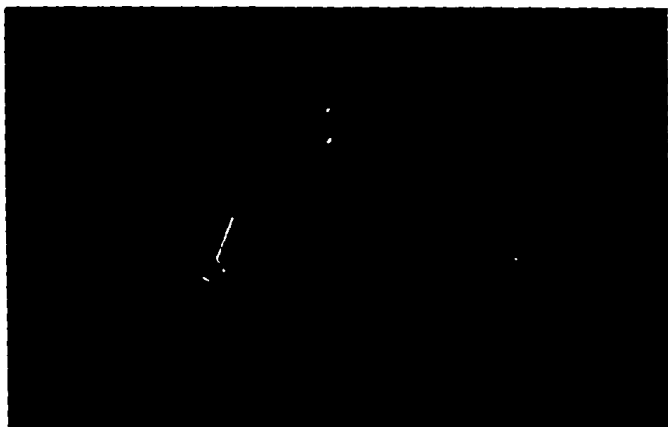
Foto No.01 ANIMAL DE EXPERIMENTACION
Conejos Nueva Zelanda (3 a 5 Kg de peso)



*Foto No.02 QUIROFANO DE INVESTIGACION
Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México*



*Foto No.03 CAMPANA DE FLUJO LAMINAR
Preparación de la solución "C" modificada
y Envasado de córneas. Laboratorio de Química
Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México*



*Foto No.04 BLEFAROSTATO PARA CONEJOS
Diseñado en la Unidad de Ingeniería Biomédica
Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México*

VIII. RESULTADOS

Se presenta el análisis descriptivo de 30 cortes histológicos, con microscopía de luz, en inmersión y microscopía electrónica de transmisión, para cada grupo.

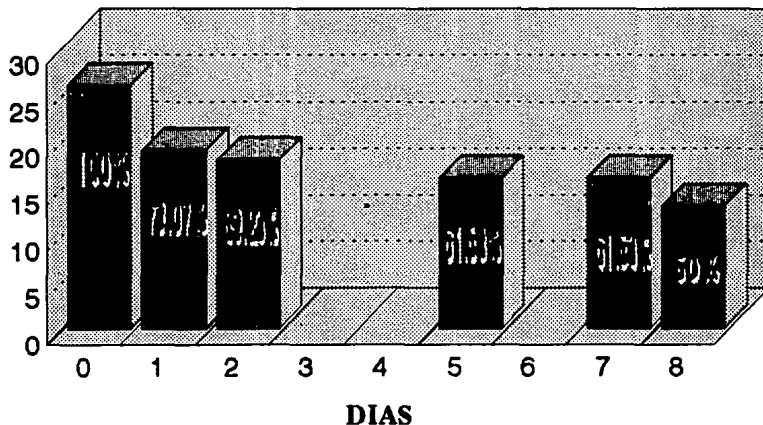
En la gráfica No.1 se tiene la cuenta de células endoteliales observadas por campo y en microscopía de luz, donde se muestra un descenso en la cuenta endotelial conforme progresa el tiempo de preservación con respecto al grupo control.

En la misma, partimos de una cuenta endotelial en número de 26 por campo que representarán nuestro 100%.

En las primeras 24 horas se ha presentado una pérdida de 26.93% obteniendo 19 células por campo, para las 48 horas continuamos observando una mínima pérdida ya que se encontraron 18 células por campo con un porcentaje de las mismas de 69.23%. La cuenta a los 05 días parece ser estable ya que se tienen 16 células por campo con un porcentaje de 61.53% y por ende una pérdida de 38.47%, que para el tiempo transcurrido en almacenaje es aceptable, persistiendo este conteo endotelial al 07 día, entre 05 y 07 día no hay cambios en el número de células, es decir se observa un descenso desde las primeras 24 horas hasta el quinto día para estabilizarse entre éste y el séptimo día. Pero al octavo tenemos una pérdida del 50% y cuenta de células endoteliales por campo de 13.

RECUENTO DE CELULAS ENDOTELIALES SOLUCION "C" MODIFICADA

No. CELULAS ENDOTELIALES



GRUPO I . CONTROL (04 Córneas)**Número de células por campo: 26****Porcentaje representado: 100%**

Se muestra un corte histológico de la córnea (foto.05), donde observamos el paralelismo de las fibras en el estroma y la capa monocelular endotelial conservada.

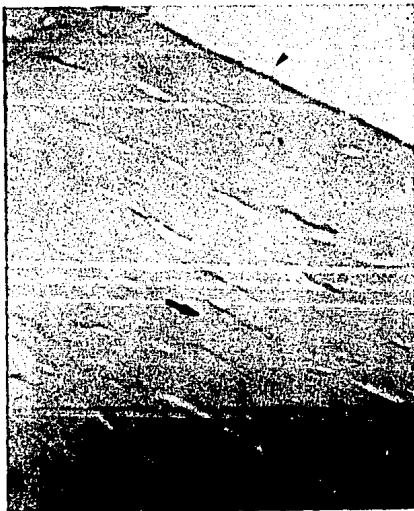


Foto No.05 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo control/Plan 40 1943-90

Con azul de toluidina en cortes semifinos (foto 06), un acercamiento a las células endoteliales que se encuentran adheridas a la membrana de Descemet.



Foto No.06 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.

Grupo control/Inmersión 1943-90

En la microscopía electrónica de transmisión (foto 07) se hace evidente la unión intercelular laterolateral respetada, no existe desprendimiento de la membrana de Descemet, ni lesiones celulares.

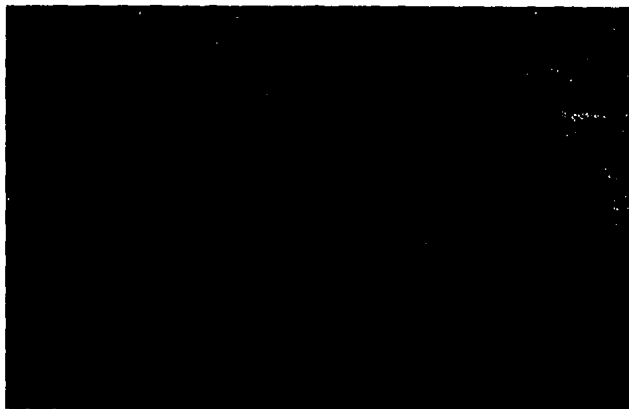


Foto No.07 Microscopía Electrónica de Transmisión.

Grupo control/Unión intercelular

GRUPO II . OBSERVACION DE LAS CORNEAS 24 HORAS DESPUES DEL ALMACENAMIENTO A 4° C EN LA SOLUCION "C" MODIFICADA (04 Córneas)

Número de células por campo: 19

Porcentaje representado: 73.07%

(foto 08) Se muestran zonas de desprendimiento de las uniones intercelulares endoteliales (laterolateral), con discreto edema pero buena adhesión a la membrana de Descemet.



Foto No.08 Microscopia de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo de 24 horas/Plan 20 1976

**GRUPO III . OBSERVACION DE LAS CORNEAS 48 HORAS DESPUES DEL
ALMACENAMIENTO A 4° C EN LA SOLUCION "C" MODIFICADA (04 Córneas)**

Número de células por campo: 18

Porcentaje representado: 69.23%

Una observación de todas las capas de la córnea (foto 09), muestra la integridad de las capas del epitelio, paralelismo en las fibras del estroma , el endotelio conserva sus características morfológicas.

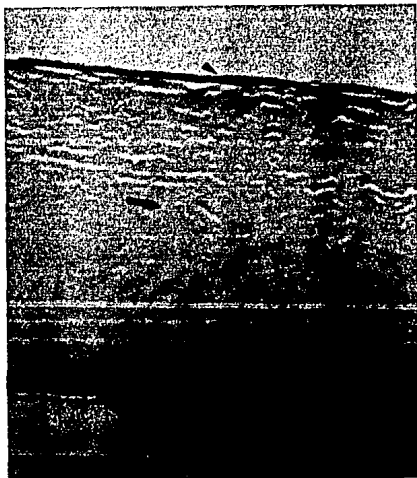


Foto No.09 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

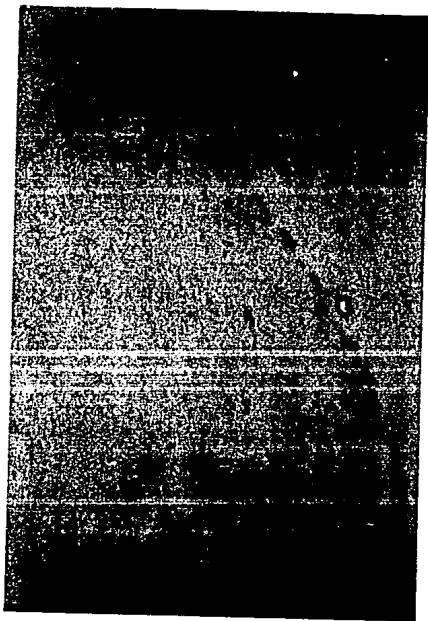
Grupo de 48 horas/Plan 10 1978

(foto 10 y 11) Las células endoteliales presentan espacios entre sí por descamación endotelial, sin embargo, las existentes se encuentran adheridas a la membrana de Descemet, esta adhesión no es firme ya que se observa la presencia incipiente de material amorfo entre las mismas y las células endoteliales.



Foto No.10 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.

Grupo de 48 horas/Inmersión



*Foto No.11 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.
Grupo de 48 horas/Inmersión*

GRUPO IV . OBSERVACION DE LAS CORNEAS A LOS 05 DIAS DESPUES DEL ALMACENAMIENTO A 4° C EN LA SOLUCION "C" MODIFICADA (04 Córneas)

Número de células por campo: 16

porcentaje representado: 61.53%

Al quinto día se presenta un desprendimiento de la monocapa endotelial mas extenso (foto 12), reflejado en la cuenta celular.

Existe aumento de los espacios entre las fibras del estroma por edema, pero los queratocitos (foto 13) no presentan alteración morfológica.

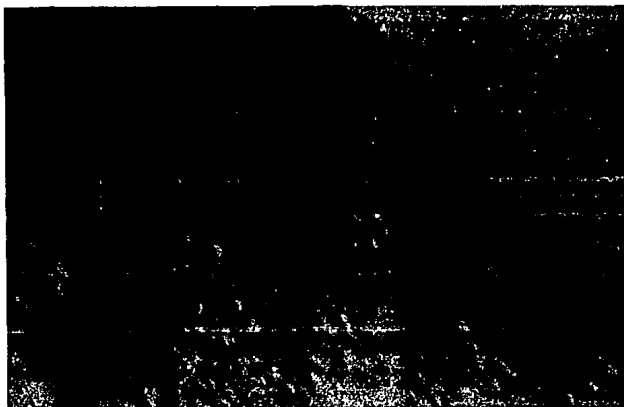


Foto No.12 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo de 05 días/ Plan 30



Foto No.13 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo de 05 días/ Plan 30

Las células endoteliales (foto 14) presentan los bordes citoplasmáticos irregulares, núcleos alargados y desprendimiento de su unión con la membrana de Descemet por depósito de material amorfo entre éstas.

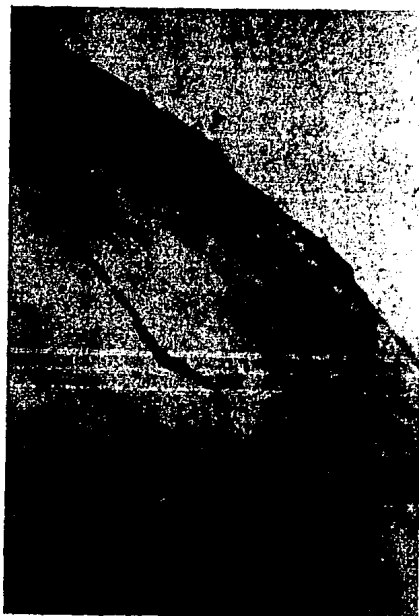


Foto No.14 Microscopía de Luz, Azul de toluidina.

Grupo de 05 días/ Inmersión

GRUPO V . OBSERVACION DE LAS CORNEAS A LOS 07 DIAS DESPUES DEL ALMACENAMIENTO A 4° C EN LA SOLUCION "C" MODIFICADA (04 Córneas)

Número de células por campo: 16

Porcentaje representado: 61.53%

Al séptimo día existía mayor edema celular en el endotelio (foto 15), con pérdida de la morfología y presencia de una banda eosinofílica que traduce degeneración celular.

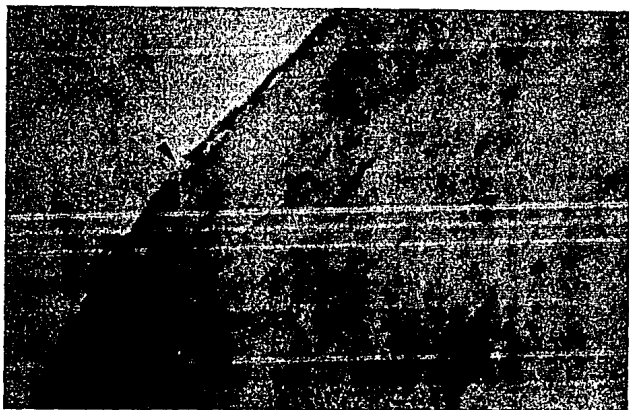


Foto No.15 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo de 07 días/ Plan 40

Banda eosinofílica

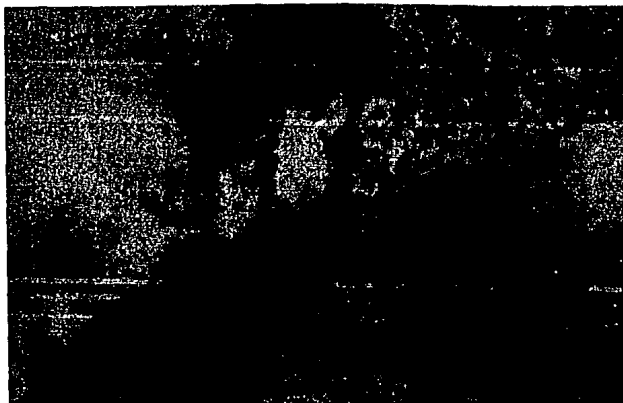
(foto 16) Encontramos evidencia de la conversión de células endoteliales a células fantasma, además se observa con mayor detalle el material amorfo entre la célula y la membrana de Descemet.



Foto No.16 Microscopía de Luz, Azul de toluidina.

Grupo de 07 días/Inmersión

En la microscopía electrónica de transmisión (foto 17) observamos gran edema celular, con vesículas pericelulares y separación entre dos células endoteliales por la presencia de material amorfo.



*Foto No.17 Microscopía Electrónica de Transmisión.
Grupo de 07 días/Unión celular interrumpida*

GRUPO VI . OBSERVACION DE LAS CORNEAS A LOS 08 DIAS DESPUES DEL ALMACENAMIENTO A 4° C EN LA SOLUCION "C" MODIFICADA (04 Córneas)

Número de células por campo: 13

Porcentaje representado: 50%

A los 08 días (fotos 18 y 19) podemos observar el plegamiento serpentiginoso de toda la monocapa endotelial o de las ahora llamadas células fantasma y picnosis, además de alteraciones estromales con escasas fibras.

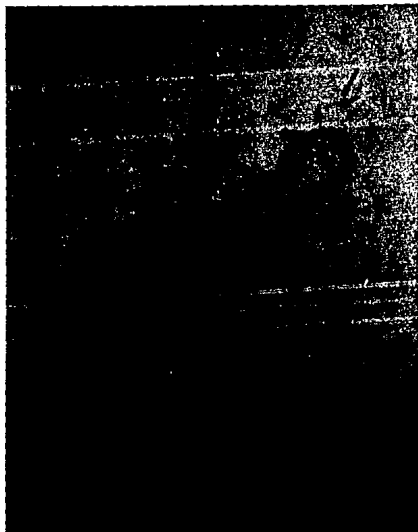
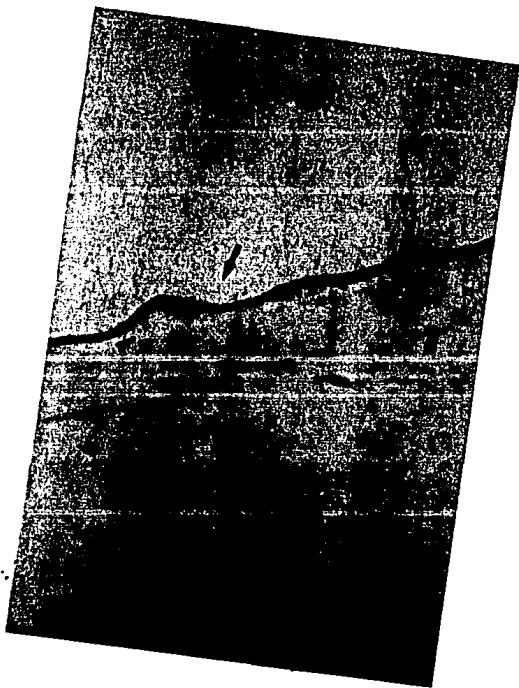


Foto No.18 Microscopía de Luz, Azul de toluidina.

Grupo de 08 días/Inmersión



*Foto No.19 Microscopía de Luz, Azul de toluidina.
Grupo de 08 días/Inmersión*

Finalmente en la microscopía electrónica de transmisión en las (fotos 20 y 21) se demuestra la AUTOLISIS de las estructuras observadas.



Foto No.20 Microscopía Electrónica de Transmisión.

Grupo de 08 días



Foto No.21 Microscopía Electrónica de Transmisión.

Grupo de 08 días

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El contar con métodos efectivos para el almacenamiento y preservación de córneas permitirá una cirugía eficiente, de urgencia o electiva para la realización de la queratoplastía penetrante (trasplante).

Hasta ahora ningún método propuesto de preservación, criopreservación o medio de cultivo ha sido satisfactorio para uso clínico y con los que actualmente contamos son sumamente costosos.

En la preservación corneal existen muchas variables, en las que se destacan, además del método de preservación, la edad del donador, patología de base del donador o receptor y habilidad quirúrgica del especialista; sin embargo todas estas variables en conjunto no están bien estudiadas ni son bien conocidas, porque tener el control de ellas en humanos es muy difícil, por ello se han desarrollado modelos experimentales para tratar de obtener las mayores ventajas y ofrecer a la población necesitada de trasplante corneal una mejor opción de tratamiento.

El trasplante de córnea en la actualidad es considerado una verdadera urgencia, ya que tan solo en nuestro Hospital existen 250 pacientes en lista de espera para obtener una posibilidad de rehabilitación visual y las donaciones de órganos se ven envueltas por místicas de la población, así tenemos que la donación de córneas es muy escasa y que el promedio de las mismas varía desde una córnea donada en 05 meses hasta la

obtención de 4 córneas por semana, datos registrados en el Banco de Ojos de la División de Oftalmología Hospital de Especialidades CMN SXXI.

De tal suerte que al obtener una córnea para trasplante en nuestra realidad, el procedimiento se efectuará a mas tardar durante las primeras 48 horas y por consiguiente el tiempo de preservación de las mismas se reduce, por lo que necesitamos de métodos de preservación que nos aseguren conservar la función endotelial por un mínimo de 03-05 días, ya que al realizarse la queratoplastia penetrante el éxito dependerá de la técnica quirúrgica empleada con todas sus implicaciones y de la repuesta del receptor.

Nosotros hemos presentado un modelo experimental en córneas de conejo adecuado a nuestras necesidades y tecnología, demostrando que la solución propuesta puede ser tan efectiva como las ya existentes en el mercado, no hay antecedente registrado de esta solución en otros modelos de preservación para córneas.

Por el momento estamos satisfechos con los resultados revelados en esta primera fase, ya que la solución conserva un porcentaje adecuado de células endoteliales durante los primeros 07 días que nos permitiría realizar un trasplante corneal con margen de seguridad e inclusive, las córneas preservadas al 08 día se pueden trasplantar tomando solo en cuenta este parámetro ya que la célula endotelial es la mayor responsable del metabolismo de la córnea.

Cuando realizamos el análisis histológico nos dimos cuenta que la microestructura se encuentra en buenas condiciones hasta el quinto día, al séptimo se insinuan cambios degenerativos muy importantes e irreversibles que se confirman sin lugar a dudas al

octavo de almacenamiento en la solución "C" y en criopreservación.

Por lo anterior nosotros concluimos :

- La solución "C" modificada es una buena alternativa para preservación de córneas con almacenamiento a 4° C.
- Es de bajo costo, calculado en N\$5.00 por litro, en comparación con los empleados actualmente que es de N\$12,800.00
- Es de fácil preparación y manejo
- Preserva morfológicamente a la célula endotelial hasta el 05 día con adecuado margen de seguridad.
- Se presenta daño irreversible al octavo día.
- Las alteraciones morfológicas presentadas entre el segundo y séptimo día, serán motivo del próximo trabajo, que tendrá como fin corroborar la funcionalidad de estas córneas, llevadas al trasplante (queratoplastía penetrante).

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Abbot R.L.; Foster R.K.: DETERMINANTS OF GRAFT CLARITY IN PENETRATING KERATOPLASTY. Arch. Ophthalmol 97: 1071-1075, 1979.
2. Andersen J.; Ehlers N.: CORNEAL TRANSPLANTATION USING LONG-TERM CULTURED DONOR MATERIAL. Acta Ophthalmol (Copenh) 64: 93-96, 1986.
3. Andersen J.; Ehlers N.: CORNEAL TRANPLANTATION USING 4 WEEK BANDEKED DONOR MATERIAL. LONG-TERM RESULT. Acta Ophthalmologica 65:293-299, 1987.
4. Matsuda M.; Bourne W.M.: LONG-TERM MORPHOLOGIC CHANGE IN THE ENDOTHELIUM OF TRANSPLANTED CORNEAS. Arch Ophthalmol 103:1343-1346, 1985.
5. Yau C-W.; Kaufan H.E.: A MEDIUM-TERM CORNEAL PRESERVING MEDIUM (K-Sol). Arch Ophthalmol. 104:593-601, 1986.
6. Kaufman H.E.: CORNEAL CRYOPRESERVATION AND ITS CLINICAL APPLICATION. Trasplant Proc 8 (suppl1):149-152, 1976.

7. Kaufman H.E.; Varnell E.D.; Kaufman S.: CHONDROITIN SULFATE IN A NEW CORNEAL PRESERVATION MEDIUM. *Am J Ophthalmol.* 100: 299-304, 1985.

8. Edelhauser H.F.; Hanneken A.M. Pederson H.J. et al.: OSMOTIC TOLERANCE OF RABBIT AND HUMAN CORNEAL ENDOTHELIUM : *Arch Ophthalmol.* 99:1281-1287, 1981.

9. Ruusuvaara P.; Setälä K.: LONG-TERM FOLLOW-UP OF CRYOPRESERVED CORNEAL ENDOTHELIUM. A SPECULAR MICROSCOPIC STUDY. *Acta Ophthalmologica* 66:687-691, 1988.

10. Schultz R.O.; Matsuda m.; Yee R.W.; Glasser D.B.; Sabin S.M.; Edelhauser H.F.: LONG-TERM SURVIVAL OF CRYOPRESERVED CORNEAL ENDOTHELIUM. *Ophthalmology* 92:1663-1667, 1985.

11. Collin B.H.: ULTRASTRUCTURAL CHANGES TO CORNEAL STROMAL CELLS DUE TO OPHTHALMIC PRESERVATIVES. *Acta Ophthalmologica* 64:72-78, 1986

12. Dohlman C.H.; Gaseset A.R.; Rose J.: THE EFFECT OF THE ABSENCE OF CORNEAL EPITHELIUM OR ENDOTHELIUM ON STROMAL KERATOCYTES. *Invest Ophthalmol* 7:520-534, 1968

13. Lindstrom L.R.; Doughman J.D.; Skelnik L.D.; Mindrup E.: MINNESOTA SYSTEM CORNEAL PRESERVATION. *Br. Journal Of Ophthalmol* 70:27-54, 1986

14. Slappay T.E.: CORNEAL PRESERVATION. *Transplant Proc* 8(suppl):223-17, 1976

15. Doughman D.J.; Van Horn D.L.; Harris J.E.; Miller G.E.:ENDOTHELIUM OF THE ORGAN CULTURED CORNEA; AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY. *Trans Am Ophthalmol Soc* 71:304-328, 1973

16. Doughman D.J.; Harris J.E; Lindstrom L.R.; Mindrup E.:PROLONGED DONOR CORNEA PRESERVATION IN ORGAN CULTURE. *Cornea* 1:7-20, 1982

17. Wong K.S.; Gottsch D.J.; Green R.; Chung Ho Ch.; Satark J.W.: CORNEAL GRAFT SURVIVAL IN THE CAT WITH PROLONGED PRESERVATION IN McCAREY-KAUFMAN AND K-SOL MEDIA. *Arch Ophthalmol* 106:981-985, 1988

18. Kaufman H.E.; Varnell E.D. Kaufman S.: K-SOL CORNEAL PRESERVATION. Am J Ophthalmol 100:299-304, 1985

19. Kaufman H.E.; Varnell E.D. Kaufman S.: CHONDROITIN SULFATE IN A NEW CORNEA PRESERVATION MEDIUM. Am J Ophthalmol 98:112-113, 1984

20. Borne M.W.; Lindstrom L.R.; Doughman J.D. ENDOTHELIAL CELL SURVIVAL ON TRANSPLANTED HUMAN CORNEAS PRESERVED BY ORGAN CULTURE WITH 1.35% CHONDROITIN SULFATE. Am J Ophthalmol 100:789-793, 1985

21. Bourne W.M.; Enoch J.M.: SOME OPTICAL PRINCIPLES OF THE CLINICAL SPECULAR MICROSCOPE. Invest. Ophthalmol 15:29, 1976

22. Fong P.L.; Hunt J.C.; Taylor M.J. Pegg E.D.: CRYOPRESERVATION OF RABBIT CORNEAS: ASSESSMENT BY MICROSCOPY AND TRANSPLANTATION. Br J Ophthalmol 70:751-760, 1986

23. Taylor M.J.; Hunt C.J.: A NEW PRESERVATION SOLUTION FOR STORAGE OF CORNEAS AT LOW TEMPERATURES. Curr Eye Res 4:963-973 1985

24. Ruusuvaara P.: THE FATE OF PRESERVED AND TRANSPLANTED HUMAN CORNEAL ENDOTHELIUM. Acta Ophthalmol (Kbh) 60:935-944, 1982

25. Tamahi K.; Varnell D.E.; Kaufman E.H.: K-SOL CORNEAL PRESERVATION AT ROOM TEMPERATURE. Br J Ophthalmol 72:370-376, 1988

26. Olsen G.E.; Davanger M.: ASPECT OF THE SURFACE MORPHOLOGY OF THE CORNEAL ENDOTHELIUM . AN EXPERIMENTAL STUDY. Acta Ophthalmologica 63:449-453, 1985

27. Olsen G.E.; Davanger M.: THE HEALING OF RABBIT CORNEAL ENDOTHELIUM Acta Ophthalmologica 62:796-807, 1984

28. Product prolife:DEXSOL CHIRON Ophthalmics Inc
Documento de la compañía

29. Williams A.K.; Erickson A.S.; Coster J.D.: TOPICAL STEROIDE, CYCLOSPORIN A, AND THE OUTCOME OF RAT CORNEAL ALLOGRAFTS. Br. J Ophthalmol 71:239-242, 1987

30. Mannis M.J.; May W.N.:SUPPRESSION OF THE CORNEAL ALLOGRAFT REACTION:AN EXPERIMENTAL COMPARASION OF CYCLOSPORIN A AND TOPICAL STEROID. *Cornea* 2:95-101, 1983