

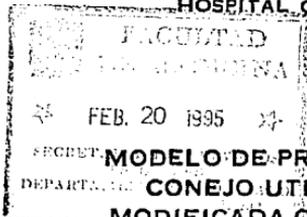


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

11209
32
2ej

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO S. Sa.



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

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

ESPECIALISTA CIRUJANO GENERAL

P R E S E N T A ;

DR. CARLOS MANUEL DIAZ CONTRERAS PIEDRAS

ASESOR DE TESIS: DR ENRIQUE FERNANDEZ HIDALGO



MEXICO, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1995



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

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO S.Sa

MODELO DE PRESERVACION EN CORNEAS DE CONEJO UTILIZANDO SOLUCION "C"

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

MODIFICADA CON TIEMPOS PROLONGADOS E HIPOTERMIA



DR. CARLOS MANUEL DIAZ CONTRERAS PIEDRAS
DIRECCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION CIENTIFICA

•
o

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

DR. CARLOS MANUEL DIAZ CONTRERAS PIEDRAS

DRA. ADRIANA HERNANDEZ LOPEZ

DRA. NURIA GISPERT CRUELES

DR. ENRIQUE FERNANDEZ HIDALGO

CLAVE DE REGISTRO: DIC/94/104/03/162



**DR. ENRIQUE FERNANDEZ HIDALGO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
POSGRADO DE CIRUGIA GENERAL**

Quiero expresar mi mas profundo
agradecimiento, al mayor tesoro de
mi preparaci3n: Los pacientes del
Hospital General de M3xico S.Sa.

HOSPITAL GENERAL
DE MEXICO, S. S. A.
* ENE. 2 19 57 *
SUBDIRECCION DE INVESTIGACION
CIENTIFICA

Brindo este esfuerzo en memoria de mi Padre,
doctor Carlos Díaz Contreras Ponce (q.p.d.),
quien fue ejemplo a seguir, como médico y
padre.

A mi madre Juana Margarita Piedras Enciso, mis
hermanos Lucía y Norberto, gracias por el apoyo
moral en todo momento.

A mi pareja la doctora Adriana Hernández López, gracias por
compartir tu vida conmigo y mostrarme que no existen
imposibles.

A los médicos que han contribuido en mi formación profesional, mereciendo el calificativo de maestro en toda la extensión de la palabra, GRACIAS.

Maestro: Doctor Enrique Fernández Hidalgo, ejemplo de honestidad, sencillez y sabiduría, digno de emular cada día.

Maestro: Doctor Ramón Vázquez Ortega, siempre tenaz, entusiasta por compartir sus conocimientos.

Maestro: Doctor Oscar Dávila Flores, mostrando siempre su mejor esfuerzo y brindándolo a los pacientes desinteresadamente.

Maestro: Doctor Rafael Gutiérrez Vega, por sus consejos certeros en los momentos mas difíciles.

Maestro: Doctor Jose Martínez Robles, interesado en la formación académica y ética de sus alumnos.

Tabla de contenido

Resumen

Introducción 1

Método y diseño experimental 2

Ilustraciones 6

Resultados 11

Discusión y conclusiones 30

Bibliografía 33

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 botón 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 4°. 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.

INTRODUCCION

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 (10-25), 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.

Hasta ahora ningún método de almacenamiento o preservación tiene aceptación general. La córnea al ser tomada y colocada en los diferentes medios de preservación se ve sometida a grandes cambios iónicos que desestabilizan la bomba endotelial (12-22), por ello es importante que se tome en cuenta la

osmolaridad y el pH de las soluciones empleadas, por otra parte los requerimientos celulares en hipotermia (4°C) se encuentran disminuidos, por lo que si se mantienen los mínimos necesarios con las soluciones propuestas, tendremos mejor control en la preparación de la misma y en su utilización. ²

El presente escrito tiene como finalidad dar a conocer el comportamiento microestructural de las córneas de conejo adulto, en un modelo experimental de preservación de córneas con tiempos prolongados de almacenamiento e hipotermia.

Proponemos que la solución "C" modificada, es útil para preservar córneas, lograndose obtener a menor costo, técnicamente fácil de preparar, siendo accesible a nuestro medio contando con las mismas propiedades protectoras del endotelio corneal que otras soluciones mas costosas utilizadas hasta el momento.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 12 conejos adultos Nueva Zelanda Albinos entre 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 1).

Bajo anestesia general endovenosa con pentobarbital sódico (25mg/kg peso) se realizó toma del botón corneal bajo técnica aseptica estricta, luego de la cual se procedió al sacrificio del animal con sobredosis de pentobarbital (foto 2).

Obtención del Botón corneal:

Técnica Quirúrgica

- Antisepsia de regiones orbitarias (cloranfenicol y gentamicina)
- Colocación de campos estériles, delimitando regiones orbitarias
- Colocación de blefarostato inicialmente en ojo derecho
- Lavado ocular con solución Hartmann
- Peritomía perilábica en los 360°
- Incisión escleral 2mm atrás del limbo esclerocorneal en el M de las XII (Paracentesis)
- Se amplía el corte para toma de botón corneal con rodete de esclera de 1-2 mm
- Colocación del botón corneoescleral en la solución C modificada
- Se repite la técnica para toma del botón contralateral

Elaboración de la Solución "C" modificada para uso clínico-experimental:

KH_2PO_4 , KHPO_4 , KCl , NaHCO_3 , GLUCOSA , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ c.b.p. 1000ml. pH 7.0 osmolaridad: 370 mOsm/l.

-Disolver las sales de KH_2PO_4 , KCl y NaHCO_3 en agua destilada y aforar a 800ml con esta misma.

-De igual forma disolver la glucosa aforando a 100ml, disolver el $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, aforando a 100ml;⁴
cada uno de estos por separado

-Esterilizar en autoclave a 15lb/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 3)

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

Se realizaron seis grupos de estudio que constarán de cuatro córneas cada una, variando el tiempo en que se sumergieron en la solución "C" modificada e hipotermia (4°C), al cumplir el tiempo de almacenaje se fijaron en glutaraldehído para su estudio de microscopía de luz, en cortes semifinos y en microscopía electrónica.

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

Los siguientes grupos fueron 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°C.

La colocación del botón corneal en la solución propuesta se realizó en condiciones de máxima asepsia.⁵

Se realizaron cultivos de las corneas preservadas durante el tiempo de almacenaje para control microbiológico.

La temperatura a la que se sometieron de acuerdo al tiempo de observación se registró con termómetro para verificar que siempre se encontrara a 4°C.

La toma del botón corneal siempre se realizó por el mismo investigador, así como la preparación de la solución se efectuó 24 horas antes del procedimiento por el mismo investigador con asesoría del Q.B.P.

Para el análisis microestructural de las córneas se utilizó técnica estandarizada, fijadas en glutaraldehído al 3 % en buffer 0.15 molar, después de 24 horas de fijación se postfijaron con tetróxido de osmio, para el estudio de microscopía electrónica de transmisión se colocaron las córneas en un bastidor para evitar plegamientos y alteraciones morfológicas no dependientes de la preservación corneal. En el estudio de microscopía de Luz se fijaron en 10% de formol, deshidratación en alcoholes, colocados en bloque de parafina para su corte, y teñidos con azul de toluidina, hematoxilina y eosina.

ILUSTRACIONES

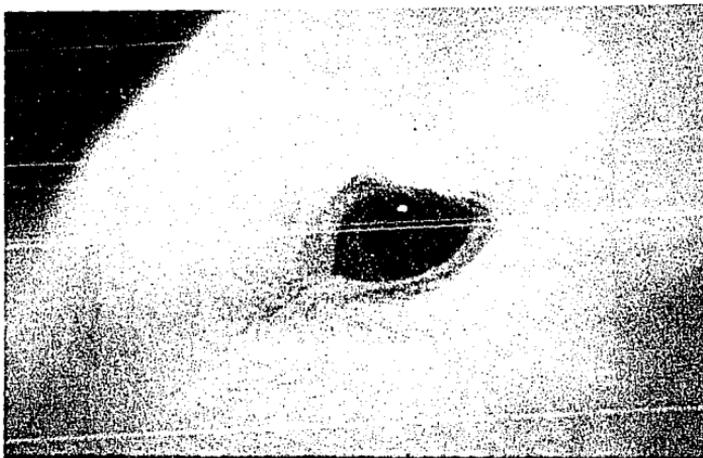


Foto No.01 ANIMAL DE EXPERIMENTACION
Conejos Nueva Zelanda (3 a 5 Kg de peso)

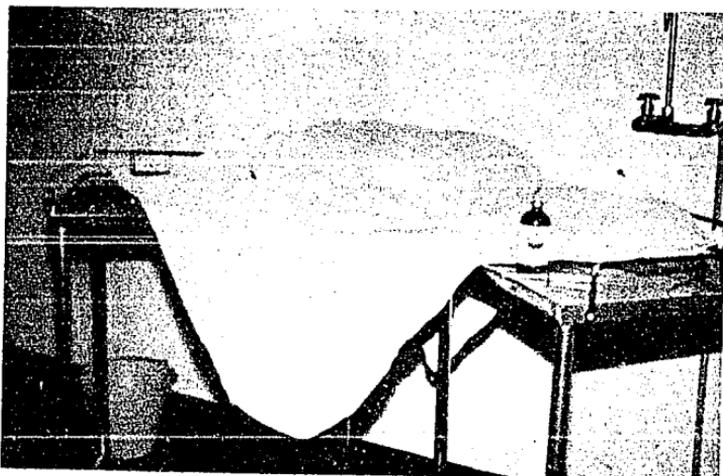
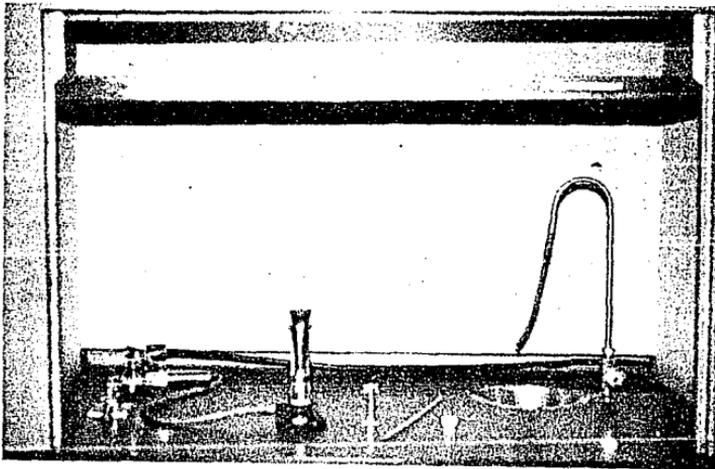
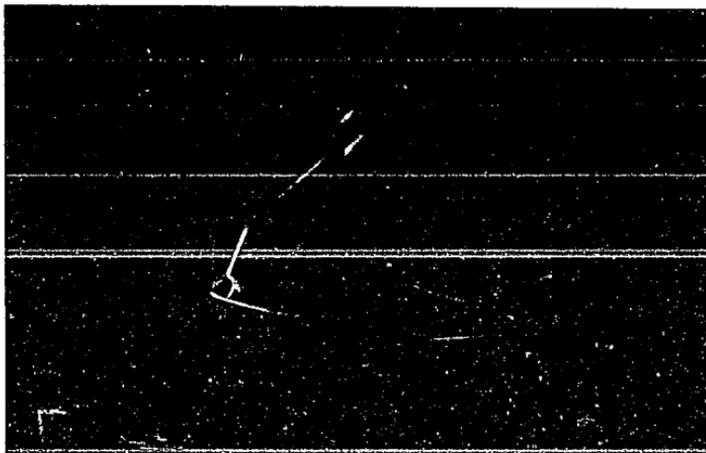


Foto No.02 QUIROFANO DE INVESTIGACION
Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México



*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*

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 en microscopía de luz (40x), 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%.

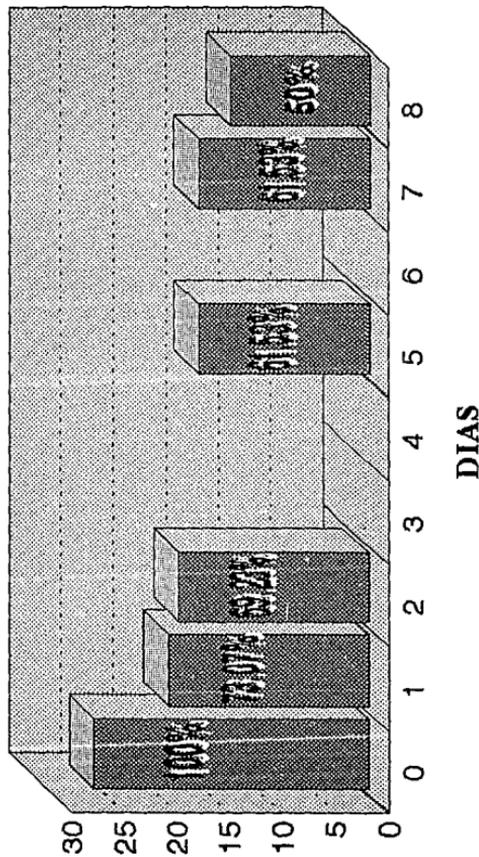
En las primeras 24 horas se ha presentado una pérdida de 26.93% obteniendo 19 células por campo, para las 48 horas continuamos observando una mínima pérdida ya que se encontraron 18 células por campo con un porcentaje de las mismas de 69.23% .

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.

Ninguna córnea cultivada mostró crecimiento bacteriano.

RECUEENTO DE CELULAS ENDOTELIALES SOLUCION "C" MODIFICADA

No. CELULAS ENDOTELIALES

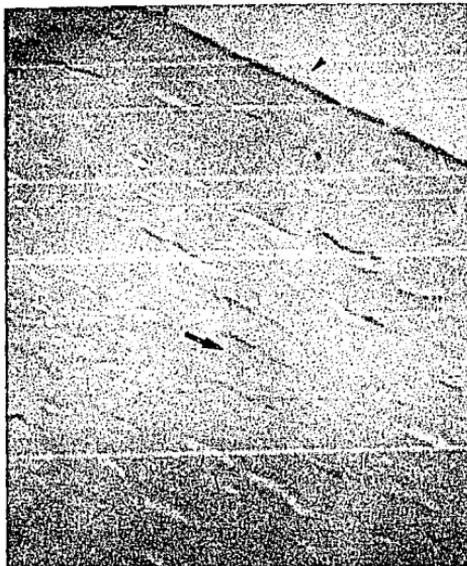


GRUPO I . CONTROL (04 Córneas)

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.



FALLA DE ORIGEN

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.

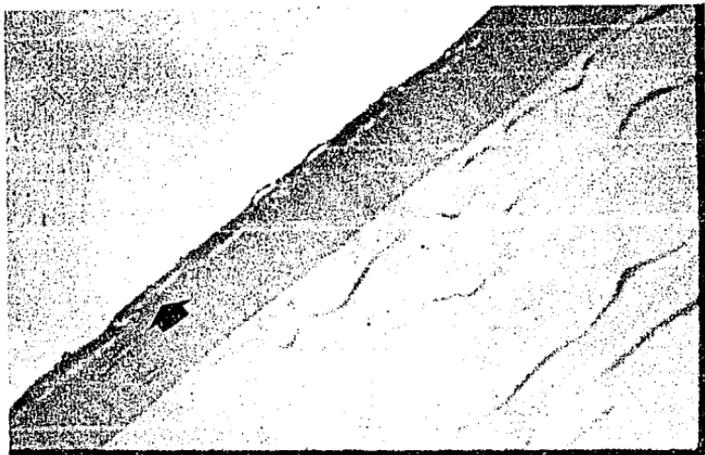
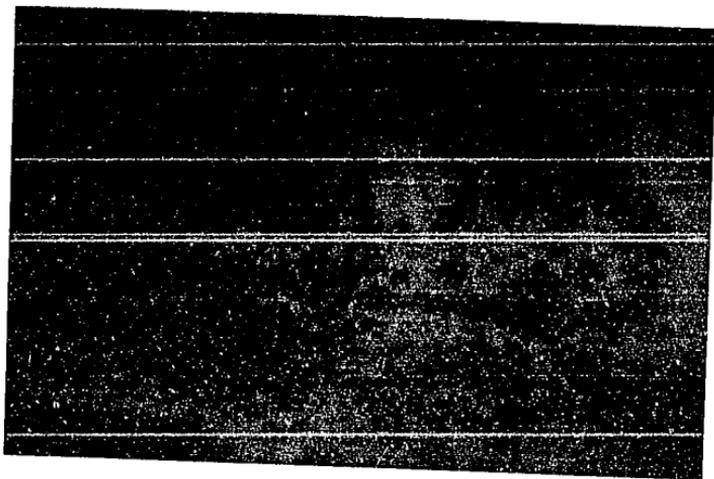


Foto No.06 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.

Grupo control/Inmersión 1943-90

FALLA DE ORIGEN

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*

FALLA DE ORIGEN

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 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.
Grupo de 24 horas/Plan 20 1976

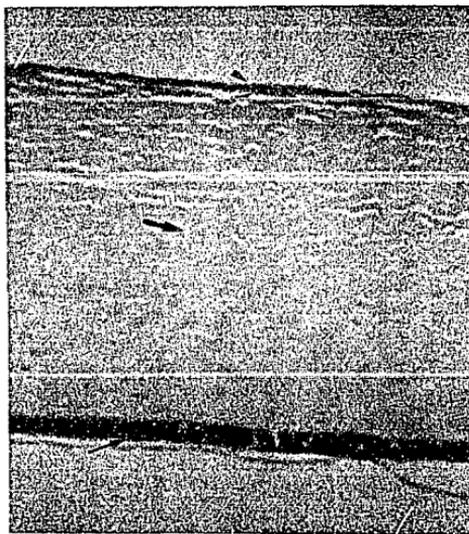
FALLA DE ORIGEN

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.



FALLA DE ORIGEN

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.

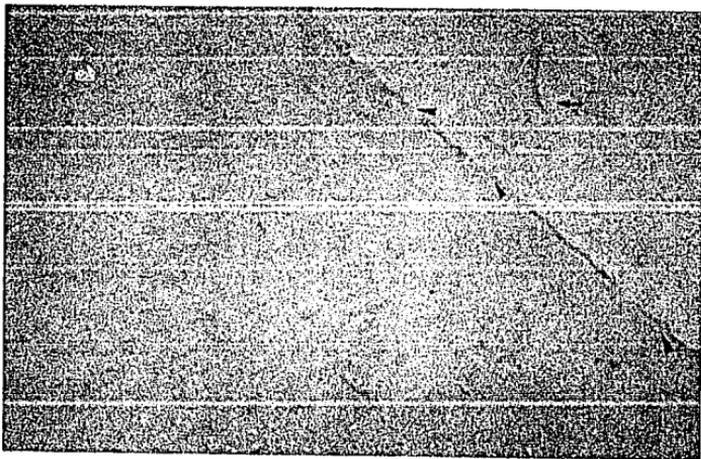


Foto No.10 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.

Grupo de 48 horas/Inmersión

FALLA DE ORIGEN!

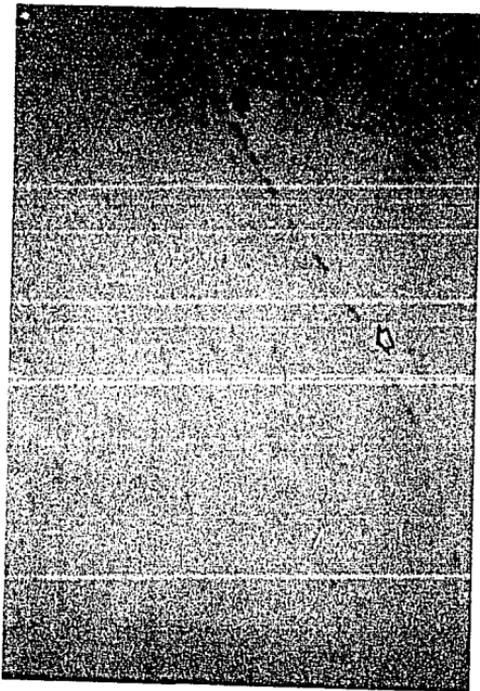


Foto No.11 Microscopía de Luz, Azul de Toluidina.

Grupo de 48 horas/Inmersión

FALLA DE ORIGEN

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.

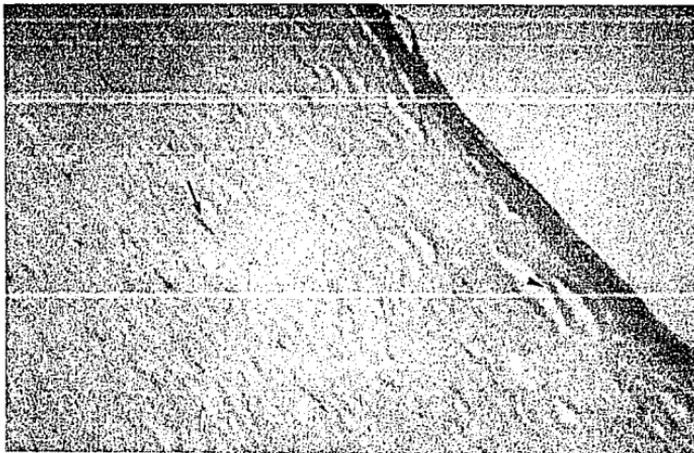


Foto No.12 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

** 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.

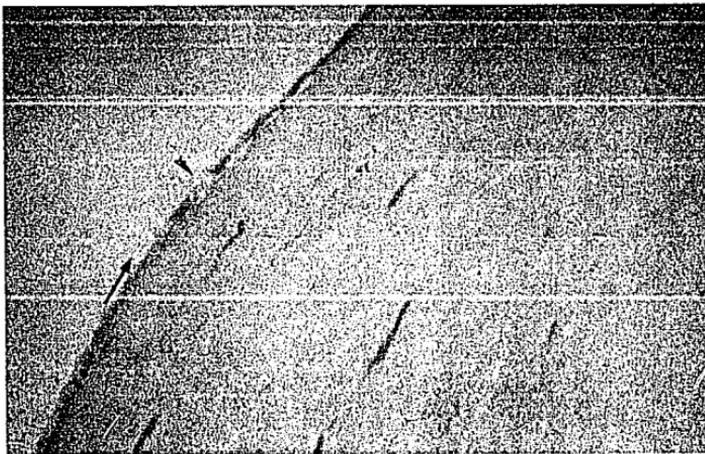


Foto No.15 Microscopía de Luz, Hematoxilina y Eosina.

Grupo de 07 días/ Plan 40

Banda eosinofílica

FALLA DE UNIDAD

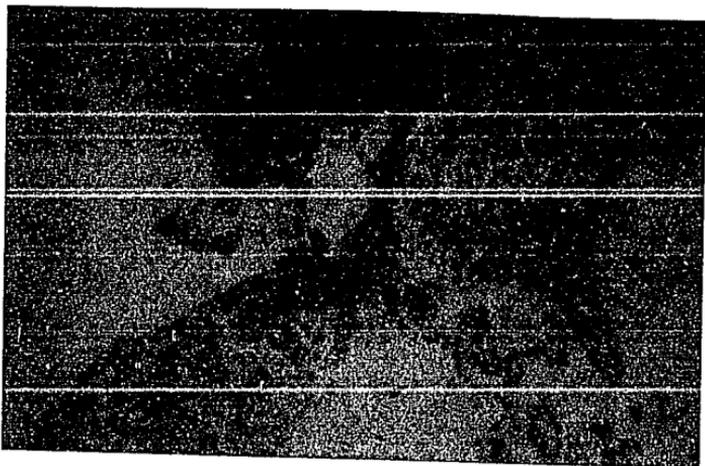
(foto 16) Encontramos evidencia de la conversión de células endoteliales a células fantasma, además se observa con mayor detalle el material amorfo entre la célula y la membrana de Descemet.



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.

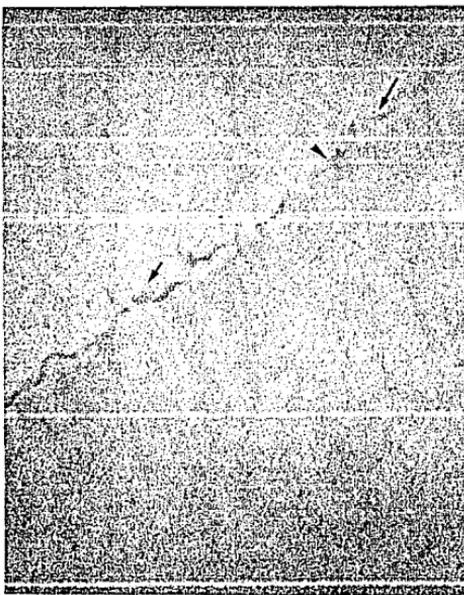
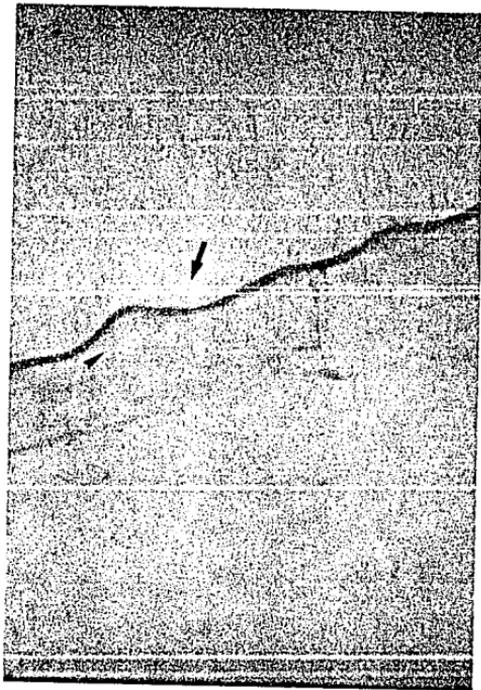


Foto No.18 Microscopía de Luz, Azul de toluidina.

Grupo de 08 días/Inmersión

FALLA DE ORIGEN



FALLA DE ORIGEN

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

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

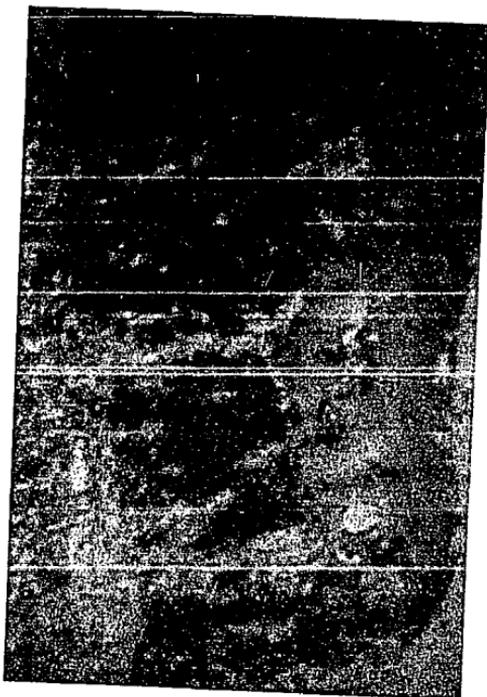


Foto No.21 Microscopía Electrónica de Transmisión.
Grupo de 08 días

FALLA DE ORIGEN

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 350 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.

De tal suerte que al obtener una córnea para trasplante en nuestra realidad, el procedimiento se efectuará a más 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 queratoplastía penetrante el éxito dependerá de la técnica quirúrgica empleada con todas sus implicaciones y de la respuesta del receptor.

Nosotros hemos presentado un modelo experimental en córneas de conejo adultos (> 1 año de edad) para evitar la división celular que se reporta en conejos jóvenes durante los procesos de reparación ante una lesión, creemos que este modelo es 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 ésta solución en otros modelos de preservación para córneas.

Por el momento estamos satisfechos con los resultados revelados en esta estudio, 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 éste 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 insinúan cambios degenerativos muy importantes e irreversibles que se confirman sin lugar a dudas al octavo de almacenamiento en la solución "C" y en criopreservación.

Con este soporte morfológico decidimos realizar trasplante de córneas preservadas en la solución propuesta a las 24 horas, 48 horas y 05 días de almacenamiento, en conejos también mayores de un año de edad, controlando la reacción inflamatoria del conejo sometido a queratoplastia penetrante con 5 000 U.I. de heparina.

Así nos encontramos con gratas sorpresas, tenemos una forma segura de preparar la solución y evitar contaminación de la misma, la respuesta del trasplante es magnífica, se realizó conteo endotelial al ojo trasplantado para compararlo con el sano (contralateral) sin existir cambios dramáticos en la cuenta, también se midió claridad del injerto siendo prácticamente la misma para el control que para el ojo del trasplante, esto nos alienta a continuar mejorando la solución propuesta y abrir el campo para la elaboración de una solución Mexicana que preserve corneas con la calidad y propiedades de las ya existentes en el mercado, siendo accesible a nuestro medio.

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, en comparación con los empleados actualmente.
- 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 de próximos trabajos, que tendrán como fin corroborar la funcionalidad de las córneas, llevadas al trasplante (queratoplastia penetrante).

BIBLIOGRAFÍA

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.; Gasøset 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. Slappey 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